



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

**“DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN SISTEMA DE ESTERILIZACIÓN
HÚMEDA PARA SUSTRATOS SÓLIDOS CON FUNCIONAMIENTO
ELÉCTRICO Y A GAS”**

TESIS DE GRADO

Previa la obtención del Título de:

INGENIERO QUÍMICO

**MARÍA ELENA RONQUILLO PONCE
MARÍA ANTONIETA FLORES SANTANA**

**Riobamba – Ecuador
2012**

NOMBRE

FIRMA

FECHA

Dra. Yolanda Días

DECANO FAC. CIENCIAS

.....

.....

Ing. Mario Villacrés

DIRECTOR ESC. ING.QUIMICA

.....

.....

Ing. Mario Villacrés

DIRECTOR DE TESIS

.....

.....

Dr. Gerardo León

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....

.....

Tec. Carlos Rodríguez

**DIRECTOR CENTRO
DE DOCUMENTACIÓN**

.....

.....

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar un sincero agradecimiento a Dios, por su infinito amor y benevolencia, por permitirme caminar junto de su mano, llevándome por el sendero del bien y por ser mi luz en aquellas ocasiones en que mis días se tornaban noches.

A mis padres, Marco y Mercedes, que con su apoyo incondicional y su comprensión han sido mi guía y mi fortaleza, incentivándome a luchar para conquistar esas metas que muchas veces parecían inalcanzables y sobre todo por hacer de mí la mujer que hoy soy.

A mis hermanos, Alexandra y Juan Carlos, por no dejarme sola nunca, a mi sobrinito Mateo Emiliano por darme muchas alegrías y por ser la luz de mis ojos.

A mi director y colaborador de tesis, Ing. Mario Villacrés y Dr. Gerardo León, quienes con su dedicación y paciencia se convirtieron en parte fundamental para que este sueño se transforme en una gran realidad.

Agradezco también al Laboratorio de Fitopatología, por su colaboración en la culminación de este proyecto.

A mi amiga y compañera de fórmula María Elena, por brindarme su amistad y apoyo en la realización de este proyecto.

María Antonieta Flores Santana

AGRADECIMIENTO

“La nobleza del alma es la grandeza del corazón”

A Dios por ser el creador del universo por la constancia y valor que ha dado a mi vida para no desmayar en este proyecto, el cual cerrará una etapa y será el comienzo de otra, la del campo profesional.

A mis adorados Padres Wilson y Magdalena que han alumbrado mi existencia, quienes me han guiado e inculcado correctamente el deseo de superación con amor, ejemplo, consejos, valores y apoyo incondicional.

A mi amado esposo Carlos Fernando por su confianza, paciencia y amor ilimitado quien ha sido la mano amiga en gratos y dificultosos momentos cuando los propósitos parecían perder su ruta, gracias por ser parte de este ideal.

A mis queridos hermanos Jessy, Alex y Jerson que han sido parte de mi vida, testigos de mi trayectoria estudiantil y amigos incondicionales. A Rosa y Elisa mis sublimes y humildes abuelitas que con su cariño y palabras de aliento han logrado en mi confianza y seguridad.

A la noble Escuela de Ingeniería Química de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por haber abierto sus aulas para plasmar en mi, conocimientos que serán de mucha valía, al Ing. Mario Villacrés y al Dr. Gerardo León quienes han guiado y asesorado paso a paso el destino de este proyecto.

Al Departamento de Fitopatología de la FRN-ESPOCH por el auspicio concedido.

A mi gran amiga y compañera María Antonieta con quien hemos empezado y finalmente plasmado este sueño.

María Elena Ronquillo Ponce

DEDICATORIA

La presente tesis la dedico de manera especial a mi tierna y dulce Grisell por darme valentía y fortaleza cada día, cuando siento en sus travesuras la inocencia de niña, que con su sonrisa y amor produce en mí, alegría y motivación. Te la dedico mi pequeña.

A todas aquellas gratas personas que han hecho posible alcanzar esta meta anhelada.

A mí, por ser la constante muestra de superación en el duro batallar que me ha tocado estar día a día, y que finalmente con la bendición de Dios lo he logrado.

María Elena Ronquillo Ponce

DEDICATORIA

Este trabajo, testigo de los sacrificios y esfuerzos que día a día iban marcando el transcurso de mi vida, lo dedico con todo mi corazón a mi ángel, a mi abuelita, Mercedes Poveda, quien desde lo más alto del firmamento sé que me protege y cuida de mí.

A a todas aquellas personas que de una u otra manera estuvieron conmigo cuando más los he necesitado, entregándome su amor, confianza, comprensión y respeto.

Y con toda la humildad me lo dedico a mí, por ser la prueba más sólida y verdadera de que los sueños se pueden convertir en realidad, pero para eso no solo basta decirlo, sino hay que perseguirlos, tenerlos y segundo a segundo luchar por conquistarlos.

Por demostrarme que lo que parece lejano en un día se puede alcanzar en otro, con esfuerzo, perseverancia, convicción y sobre todo con amor a lo que se hace.

María Antonieta Flores Santana

HOJA DE RESPONSABILIDAD

Nosotras, María Elena Ronquillo Ponce y María Antonieta Flores Santana somos responsables de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en este trabajo y el patrimonio intelectual de la memoria de grado pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

INDICE DE ABREVIATURAS

ASTM	Sociedad Americana para Pruebas y Materiales
° C	Grados centígrados
C.A	Margen de espesor por corrosión
CR	Velocidad de corrosión
C	Corrosión máxima permitida
L	litros
D	Diámetro externo
D	Diámetro interno
E	Eficiencia de soldadura
F	Fuerza
H	Hora
L	Longitud del recipiente
mm	Milímetros
Min	Minutos
Nm	Nanómetros

P	Presión
Pd	Presión de Diseño
Pm	Presión máxima permisible
R	Radio
Sg	Segundos
S	Esfuerzo del material
T	Temperatura
t	Espesor de la pared
V	Volumen del recipiente

CARATULA

HOJA DE FIRMAS

AGRADECIMIENTO

DEDICATORIA

HOJA DE RESPONSABILIDAD

INDICE DE ABREVIATURAS

TABLA DE CONTENIDOS

INDICE DE ANEXOS

INDICE DE FIGURAS

INDICE DE TABLAS

INDICE DE ECUACIONES

RESUMEN	I
SUMMARY	II
INTRODUCCIÓN	III
ANTECEDENTES.....	V
JUSTIFICACION	VI
OBJETIVOS.....	VII
GENERAL.....	VII
ESPECÍFICOS.....	VII
1. MARCO TEORICO	
1.1. SUSTRATO	1

1.1.1. SUSTRATOS SUJETOS A ESTERILIZACIÓN PARA PRODUCCION DEHONGOS.	1
1.2. ESTERILIZACIÓN.....	4
1.2.1. IMPORTANCIA DE LA ESTERILIZACION.....	5
1.2.2. MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN	5
1.3. AUTOCLAVE	15
1.3.1. EQUIPO:.....	15
1.3.2. CONTEXTO HISTÓRICO DEL AUTOCLAVE	16
1.3.3. PARTES PRINCIPALES DEL AUTOCLAVE	18
1.3.4. FUNCIONAMIENTO DEL AUTOCLAVE.....	19
1.3.5. FACTORES PRINCIPALES QUE INTERVIENEN EN LA ESTERILIZACION POR VAPOR (CALOR HUMEDO).....	20
1.3.6. FACTORES SECUNDARIOS QUE INTERVIENEN EN LA ESTERILIZACION POR VAPOR (CALOR HUMEDO).....	25
1.3.7. LLENADO DE LA CAMARA	26
1.3.8. EL AGUA EN EL PROCESO DE ESTERILIZACION.....	27
1.3.9. PROCESO DE ESTERILIZACION POR VAPOR (CALOR HUMEDO).....	29
1.3.10. TIPOS DE VAPOR DE AGUA.....	29
1.3.11. EL AIRE EN EL AUTOCLAVE.....	33
1.3.12. AUTOCLAVES DE VAPOR.....	34
1.3.13. SEGURIDAD.....	34
1.3.14. PREVENCIÓN DE FALLAS	35
1.4. TIPOS DE RECIPIENTES A PRESION	36
1.4.1. POR SU USO	37
1.4.2. POR SU FORMA.....	37
1.4.3. TIPOS DE TAPAS	38
1.4.4. SOLDADURA EN RECIPIENTES A PRESIÓN	40
1.4.5. BOQUILLAS EN RECIPIENTES A PRESIÓN	42
1.4.6. MATERIALES EN RECIPIENTES A PRESIÓN	45
1.4.7. DEFINICIÓN DE CONCEPTOS.....	49

1.5. DISEÑO DEL SISTEMA DE ESTERILIZACIÓN.....	55
1.5.1. ECUACIONES USADAS PARA EL DISEÑO DEL EQUIPO DE ESTERILIZACIÓN.....	55
2. PARTE EXPERIMENTAL	
2.1. MUESTREO.....	64
2.2. METODOS	67
2.2.1. EXPERIMENTAL.....	67
2.3. TECNICAS	67
2.3.1. SIMULACIÓN.....	67
2.3.2. OBSERVACIÓN	68
2.4. DATOS EXPERIMENTALES – SIMULACIÓN.....	69
DATOS EXPERIMENTALES DURANTE LAS PRUEBAS DE VALIDACIÓN DEL EQUIPO.....	70
2.5. DATOS ADICIONALES.....	71
3. DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL EQUIPO	
3.1. DISEÑO DE INGENIERIA DEL EQUIPO	74
3.1.1. CÁLCULO DE CALOR REQUERIDO	74
3.1.2. CÁLCULO DEL AGUA NECESARIA PARA EL PROCESO DE ESTERILIZACION.....	75
3.1.3. CÁLCULO DE MASA DEL GAS NECESARIO PARA EL ESTERILIZADOR.....	75
3.1.4. CÁLCULO DE LA FUERZA DEBIDO A LA PRESIÓN DEL FLUIDO DENTRO DEL RECIPIENTE (F)	76
3.1.5. CÁLCULO DE LA LONGITUD DEL RECIPIENTE.....	77
3.1.6. CÁLCULO DEL ESPESOR DEL CASCO CILÍNDRICO	77
3.1.7. CÁLCULO DEL ESPESOR DE LA CABEZA TORIESFERICA (TC).....	78
3.1.8. PRESIÓN DE TRABAJO MAXIMA PERMITIDA (Pm)	80
3.2. REQUERIMIENTO PRESUPUESTARIO	81
3.2.1. RECURSOS DE INVERSIÓN FIJA.....	81
3.2.2. RECURSOS OPERACIONALES	82
3.2.3. RECURSOS TOTALES	82

3.2.4. DESCRIPCION TECNICA DE DISEÑO	83
3.3. CONSTRUCCION DEL EQUIPO	84
3.3.1. TIPOS DE MATERIALES Y CONTROLES PARA EL EQUIPO	86
3.4. MANEJO Y OPERACION DEL ESTERILIZADOR	86
3.5. PRUEBAS DE VALIDACION.....	87
3.5.1. PRUEBAS DE VALIDACION OPERACIONAL.....	87
3.5.2. PRUEBA DE VALIDACIÓN FUNCIONAL.....	89
3.5.2.1. ESTERILIZACIÓN IDEAL.....	90
3.5.2.2. PRODUCTO CONTAMINADO.....	90
3.5.2.3. PRODUCTO CON ALTO GRADO DE CONTAMINACIÓN.....	91
3.5.3. PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS DE LA CALIDAD DEL NUTRIENTE.....	92
3.6. RESULTADOS.....	94
3.6.1. RESULTADOS TOMADOS EN LA VALIDACION DEL EQUIPO.....	94
3.6.2. RESULTADOS DE LA ESTERILIZACION SEGÚN EL GRADO DE CONTAMINACION.....	95
3.6.3. RESULTADOS DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS.....	96
4. ANALISIS DE RESULTADOS	
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
5.1. CONCLUSIONES.....	102
5.2. RECOMENDACIONES.....	104
6. BIBLIOGRAFÍA	
INDICE DE ANEXOS	
ANEXO I	
CONTROL DEL PROCESO DE ESTERILIZACIÓN: VAPOR SATURADO	
ANEXO II	
GUIA OPERACIONAL DE LA AUTOCLAVE	
ANEXO III	
DISEÑO DEL TRÍPODE	
ANEXO IV	
PARTES DEL SISTEMA DE ESTERILIZACION	

ANEXO V

PARTES DEL SISTEMA DE ESTERILIZACION

ANEXO VI

DIMENSIONES DEL SISTEMA DE ESTERILIZACION

ANEXO VII

**TABLA DE CONVERSION DE DECIMALES DE PULGADA CON
EQUIVALENTES EN MILIMETROS**

ANEXO VIII

SISTEMA METRICO

ANEXO IX

FACTOR F

ANEXO X

PROPIEDADES DE LOS MATERIALES ACERO AL CARBONO

DETERMINACION DE VALOR MAXIMO DE ESFUERZO PERMITIDO

ANEXO XI

PROPIEDADES DEL AGUA SATURADA (LIQUIDO – VAPOR)

ANEXO XII

FOTOGRAFIAS DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS

ANEXO XIII

FOTOGRAFIAS DEL EQUIPO SIMULADOR

ANEXO XIV

RESULTADOS DE LAS MUESTRAS ESTERILIZADAS

ANEXO X121

EQUIPO DISEÑADO Y CONSTRUIDO

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	Pp
1.3-1. Esquema de una autoclave.....	15
1.3.3-1. Esquema de las partes de una autoclave.....	17
1.3.8-1. Proceso de esterilización por vapor.....	24
1.4.7.8.1-1 Presión del fluido, perpendicular a las paredes del recipiente.....	46
1.5.1.1-1 Fuerza debida a la presión.....	49
1.5.1.2-1. Longitud de un recipiente cilíndrico.....	56
1.5.1.3-1. Espesor del casco cilíndrico.....	57
1.5.1.4-1 Espesor de la cabeza toriesférica.....	59
3.2.4.1. Descripción gráfica del panel electrónico.....	86
3.6.1-1. Histograma de validación del equipo.....	87

INDICE DE TABLAS

TABLA	Pp.
1.1.1-1. Composición del arroz blanco por 100g de sustancia.....	2
1.3.5.1-1. Factor D (tiempo).....	21
1.3.5.1-2. Factor Z (temperatura).....	22
1.3.5.1-3. Factor F (temperatura de referencia).....	23
1.3.9-1. Tensión de vapor del agua por debajo de 100°C.....	28
1.3.10-2. Ventajas del vapor saturado.....	31
1.3.10-3. Desventajas del vapor sobrecalentado.....	32
1.4.7.10-1 Eficiencia de la soldadura.....	54
2.1-1 Plan de muestreo de sustratos.....	65
2.1-2 Plan de muestreo de sustratos.....	65
2.1.3 Condición de operación= esterilización ideal.....	66
2.4-1 condición de operación -contaminación del producto.....	66
2.4-3 condición de operación-Con alta contaminación.....	69
2.4-4 Matriz de decisión para identificación de variables de proceso.....	70
2.7-1 Valores del calor específico.....	71
3.2.1-1 Recursos de inversión fija.....	81

3.2-2. Recursos operacionales.....	82
3.2.3-1. Recursos totales.....	82
3.2.4-1. Hoja técnica de diseño	83
3.3-1. Tipos de materiales y controles para el equipo.....	86
3.5.1-1. Funcionamiento de la parte mecánica del equipo.....	89
3.5.2-1. Parámetros de funcionalidad.....	91
3.5.3-1. Pruebas microbiológicas de calidad del nutriente.....	94
3.6.1-1. Resultados de la validación del equipo.....	94
3.6.2-1. Resultados de la esterilización según el grado de contaminación.....	95
3.6.3-1. Análisis microbiológico.....	96
3.6.3-2. Análisis microbiológico.....	97
3.6.3-3. Análisis microbiológico con alto grado de contaminación.....	98

ÍNDICE DE ECUACIONES

ECUACIONES	PP
1.5.1.1-1. Fuerza debido a la presión del fluido dentro del recipiente.....	56
1.5.1.2-1. Longitud del recipiente.....	57
1.5.1.3-1. Espesor del casco cilíndrico sin margen de corrosión(t).....	58
1.5.1.3-2. Espesor del casco cilíndrico con margen de corrosión (t).....	58
1.5.1.4-1. Espesor de la cabeza tori esférica sin margen de corrosión.....	59
1.5.1.4-2. Espesor de la cabeza tori esférica con margen de corrosión.....	59.
1.5.1.5-1. Presión de trabajo máxima permitida (pm).....	60
1.5.1.6-1. Cálculo del calor específico del sustrato.....	62
1.5.1.6-2. Cálculo del calor específico del sustrato.....	62

RESUMEN

El diseño y construcción de un sistema de esterilización húmeda para sustratos sólidos con funcionamiento eléctrico y gas que funcionara en el laboratorio de Fitopatología, Facultad de Recursos Naturales, ESPOCH.

Fue construido mediante el método experimental, empleando técnicas de simulación y observación, que nos permitió idealizar valores de operación, funcionamiento y las variables de proceso como: presión, temperatura y tiempo.

En la construcción del equipo se empleó acero inoxidable AISI 304L de 3mm, en el casco y la tapa, un aislante de térmico en lana de vidrio y un recubrimiento en acero inoxidable 304L de 1mm, el volumen es de 135L con una longitud de 0.57 m y un diámetro de 0.55 m, se realizó el balance de energía donde el calor necesario es de 63417.9 J, volumen de agua necesario para convertir en vapor saturado es 0.015m^3 y una masa de gas necesario 0.89 kg por lote de producción, consta de un tablero eléctrico con: interruptor de encendido y apagado, termocupla, temporizador (programables), manómetro y demás accesorios distribuidos en la estructura del equipo.

Conocidas las características de diseño como: volumen, presión de operación, presión de diseño, presión máxima de trabajo permitida, temperatura de operación, se realizaron cálculos ingeniería que permitieron determinar características mecánicas como: diámetro 0.55m, longitud 0.57m, espesor del material 0.03m y el margen de corrosión de $0.0015875\text{m}/12\text{años}$.

SUMMARY

The design and construction of a humid sterilization system for solid substrata occurred rarely with electrical functioning and gas that was working in the laboratory of Phytopathology, Natural Resources Faculty, ESPOCH

It was constructed by means of sampling and observation methods, using simulation skills, which allowed to idealize values of operation, functioning and the process variables such as: pressure, temperature and time

In the construction of the equipment, stainless steel AISI 304L of 3mm of thickness was used like in the helmet and the lid, an insulating of thermal, glass wool and a recovering of stainless steel 304L of 1mm, the volume is of 135L with a length of 0.57 m and a diameter of 0.55 m. the balance of energy was carried out where the necessary heat is 63417,9 J, necessary volume of water to turn into saturated steam is 0.015m³ and a mass of necessary gas 0.89kg for lot of production, it consists of an electrical board with an on-off switch, thermocouple, temporizer (programmable), manometer and cylindrical nuts, electrical resistance, packing of high thermal resistance distributed on the board.

Known the characteristics of design such as volume, pressure of operation, pressure of design, maximum authorized pressure of work, temperature of operation, calculus of engineering determined metallic characteristics such as a diameter 0.55m, length 0.57m, thickness of the material 0.03m and the margin of corrosion of 0.0015875m/12 ys.

INTRODUCCIÓN

La tecnificación de la industria es un pilar fundamental para el desarrollo de las empresas, las mismas que deberían tratar siempre de innovar y de conseguir el crecimiento que les proporcione ventajas ante la competencia y mayores utilidades en el sector que realizan sus actividades, como la adquisición de diversos equipos industriales. Hoy en día gran parte de industrias y entidades exigen fuertes medidas de desinfección para poder ofrecer un producto de calidad sin perjudicar ni alterar la producción, así tenemos en el campo textil, automotriz, alimenticio, o de cualquier otra empresa o microempresa en donde se deben utilizar equipos que eliminen toda clase de contaminación.

En la actualidad existe gran demanda de estos equipos conocidos como esterilizadores o autoclaves, cuyo objetivo principal es optimizar el proceso de esterilización, que no es más que la destrucción de cualquier forma de vida patógena, que pueda alterar la integridad de los resultados a obtenerse, en donde la presión, la temperatura y el tiempo de exposición juegan un papel muy importante.

En el primer capítulo de este documento se describe el fundamento teórico necesario para el desarrollo del trabajo de tesis.

En el capítulo 2 se muestra la parte experimental, métodos y técnicas a emplearse en su realización.

En el capítulo 3 se describe el diseño y construcción del sistema de esterilización, así como los respectivos cálculos y resultados.

En el capítulo 4 se indica los análisis de resultados netamente numéricos.

En el capítulo 5 se presentan las conclusiones a las que se llegó después de terminado el trabajo de tesis y las recomendaciones respectivas.

ANTECEDENTES

La unidad de Producción de Microorganismos Antagonistas y entomopatógenos del Departamento de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo MIKROBEN, actualmente cuenta con 19 años de investigación a nivel de laboratorio y campo, este proceso nos permite poner a disposición de los agricultores de la región: Sierra, Costa y Oriente, los distintos tipos de formulaciones.

Los microorganismos producidos en este laboratorio son cepas nativas aisladas de suelos ecuatorianos, sin manipulación genética, son reconocidos como productos permitidos según las normas de la agricultura ecológica, de la unión Europea definidas por el reglamento # 2092/91 de la misma.

Los productos son recomendados y han sido probados con muy satisfactorios resultados en cultivos como: Tomate riñón, arveja, papas, col, lechuga, ajo, cebolla, maíz, babaco, mora, flores de exportación, melón, sandía, pimiento, café, cacao, arroz, pimienta, palma africana, banano, cítricos y otros.

Además estos productos actualmente tienen el registro del ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador pero nuestra visión es poder contar con un equipo de esterilización húmeda que permita satisfacer las demandas del mercado nacional.

Razón por la cual requerimos del aporte de la empresa privada para lograr nuestros objetivos.

JUSTIFICACION

La esterilización consiste en la destrucción o eliminación de cualquier tipo de vida microbiana de los objetos inanimados, incluyendo las formas esporuladas de hongos y bacterias. Significa el nivel más alto de seguridad y, por tanto, de letalidad (o eficacia biocida).

Por esta razón es importante proporcionar a todos los servicios y unidades el material o equipamientos en las condiciones idóneas de esterilidad en tiempo y coste adecuados, así como su correcta protección, para la realización de los diferentes procedimientos industriales, consiguiendo la satisfacción de las personas con la optimización del producto elaborado.

El laboratorio de Fitopatología actualmente cuenta con un equipo de esterilización, el mismo que no satisface al cien por ciento las necesidades que demanda la producción, gastando más tiempo del requerido debido a su falta de capacidad, es por esto que conscientes del problema que esta falencia genera hemos decidido construir un equipo de esterilización húmeda, que es la más extendida por su versatilidad y efectividad en productos resistentes al calor y que tenga mayor capacidad y un doble funcionamiento eléctrico y a gas para evitar parar la producción si se produce algún imprevisto.

OBJETIVOS

GENERAL

1. Diseñar y construir un sistema de esterilización húmeda para sustratos sólidos con funcionamiento eléctrico y a gas.

ESPECÍFICOS

1. Realizar la simulación de un sistema de esterilización en húmedo para sustratos sólidos.
2. Efectuar la toma de datos de presión, tiempo y temperatura, en el sistema simulador.
3. Identificar las variables de proceso que caracterizan al sistema de esterilización en húmedo
4. Elaborar el diseño de ingeniería del sistema de esterilización en húmedo tomando como referencia las variables de proceso.
5. Determinar las respectivas pruebas de validación del diseño de ingeniería, una vez construido y operando el sistema de esterilización en húmedo.

CAPITULO I

MARCO

TEORICO

1. MARCO TEORICO

1.1. Sustrato

“Es el material alimenticio sobre el cual se van a desarrollar las cepas de hongos, debe tener un grado adecuado de acidez, alcalinidad, nutrientes y factores que ayuden al crecimiento y desarrollo de los microorganismos; el mismo que debe estar exento de todo contaminante.

Las propiedades físico químicas del sustrato son las que determinan que hongo o que microorganismo pueden crecer en él.

Un sustrato adecuado contiene como mínimo carbono, nitrógeno, fosforo, azufre y sales inorgánicas.

Los materiales que generalmente actúan como sustratos son residuos que se obtienen de cereales, aserrín, papeles, estiércoles de granjas, que pasan por un proceso de fermentación, en el que se busca degradar en tal forma los materiales que sean mejor aprovechados por los hongos.”¹

1.1.1. SUSTRATOS SUJETOS A ESTERILIZACIÓN PARA PRODUCCION DEHONGOS.

1.1.1.1. ARROZ

“El arroz está dentro de la familia de las gramíneas, es un fruto cariósides al igual que la avena, cebada y trigo. Es ovalado y mide de 4-6 mm de longitud. Este se encuentra dentro

¹ www.wordreference.com/definicion/sustrato

de la cascarilla, que le da una superficie abrasiva y rígida que la protege de daños y ataques por insectos hasta su cosecha.

TABLA 1.1.1.1-1
COMPOSICION DEL ARROZ BLANCO POR 100g DE SUSTANCIA

Componente	Cantidad (%)	Componente	Cantidad (cal)
Agua	15.5	Energía	351
Componente	Cantidad (g)	Componente	Cantidad (mg)
Proteínas	6.2	Fósforo	150
Grasas	0.8	Hierro	0.4
Carbohidratos	76.9	Sodio	2
Fibra	0.3	VitaminaB1 (Tiamina)	0.09
Cenizas	0.6	VitaminaB2 (Riboflavina)	0.03
Calcio	6	Niacina(Ácido nicotínico)	1.4

Fuente: www.wordreference.com/definicion/sustrato

Aplicaciones

El arroz es un sustrato natural utilizado para la producción de esporas de trichoderma sp, a partir de procesos de fermentación artesanal e industrial

1.1.1.2.CASCARILLA DE ARROZ

La cascarilla de arroz es un subproducto de la industria molinera, que resulta abundantemente en las zonas arroceras y que ofrece buenas propiedades para ser usado como sustrato hidropónico.

Entre sus principales propiedades físico-químicas tenemos que es un sustrato orgánico de baja tasa de descomposición, es liviano, de buen drenaje, buena aireación y su principal costo es el transporte.

La cascarilla de arroz es el sustrato más empleado para los cultivos hidropónicos. El principal inconveniente que presenta la cascarilla de arroz es su baja capacidad de retención de humedad y lo difícil que es lograr el reparto homogéneo de la misma (humectabilidad) cuando se usa como sustrato único en camas o bancadas.

Aplicaciones

La cascarilla de arroz (*Orizasa-tiva*) es utilizada para la producción de esporas de hongos benéficos para el campo agrícola mediante procesos de fermentación sólida, artesanal y semi-industrial. Este sustrato tiene la capacidad de hospedar al hongo para su normal crecimiento, también por su bajo costo en la obtención.

1.1.1.3.MELAZA

La melaza o miel de caña es un líquido denso y negruzco constituido por el residuo que permanece en las cubas después de la extracción de la mayor parte de los azúcares de caña por cristalización y centrifugación. Las melazas son concentradas de hidratos de carbono. Los azúcares representan del orden del 80% de su contenido en materia seca. Como consecuencia son muy palatables y su contenido energético es apreciable. Este subproducto de la industria azucarera posee un alto contenido de sacarosa (32%), oligosacáridos (rafinosa) y ácidos orgánicos (málico, oxálico, láctico, actínico y cítrico).

La melaza de caña tiene un contenido en proteína bruta cercano al 4%. La fracción nitrogenada es totalmente soluble, estando constituida en un 50% por aminoácidos principalmente (aspártico y glutámico) y en 50% por nitrógeno no proteico. La proporción de aminoácidos esenciales es muy baja.

Las melazas presentan altos contenidos de cenizas. La de caña es rica en calcio, cloro y magnesio así como en potasio (1.5-4%), sin embargo el nivel de fósforo es reducido.

Aplicaciones

Por el alto contenido de hidratos de carbono, este elemento es de gran importancia para el crecimiento de hongos por suministrar energía y por ende su normal crecimiento”².

1.2. ESTERILIZACIÓN

“Esterilización es la aniquilación de todas las bacterias, patógenas y no patógenas incluyendo esporas, así como de los virus .Los principales sistemas de esterilización, más comúnmente utilizados son el calor húmedo (vapor de agua) ,el calor seco(aire caliente).

El calor seco o húmedo elimina todas las bacterias combinando adecuadamente factores como la temperatura a la que se someten y el tiempo de exposición. Se puede esterilizar por calor seco en estufas a más de 160 °C durante media hora, o por calor húmedo en autoclaves a 121 °C durante 20 minutos y a presión superior a la atmosférica. La ebullición a 100 °C no elimina todos los gérmenes patógenos (entre los que no sólo están incluidos las bacterias sino también virus y levaduras). Otro medio habitual de esterilización, utilizado

² www.es.wikipedia.org/wiki/Esterilización

para objetos no resistentes al calor, son los medios químicos y muchas otras sustancias. Otro medio de esterilización actual son las radiaciones ionizantes (beta, gamma).

1.2.1. IMPORTANCIA DE LA ESTERILIZACION

La razón fundamental para efectuar la esterilización en Microbiología Industrial es para evitar la competición por los nutrientes en medios de cultivo y permitir así que el cultivo de microorganismos específicos que se utilizan en un proceso de fermentación de los rendimientos esperados en biomasa y/o metabolitos específicos.

Esterilización significa la eliminación de toda forma de vida de un medio o material, lo que se lleva a cabo generalmente por medios físicos, por ejemplo, filtración, o por muerte de los organismos por calor, productos químicos u otra vía. Esta definición excluye por lo tanto cualquier técnica que resulte solamente en un daño a los microorganismos o atenuación de la actividad de cualquier tipo”³.

1.2.2. MÉTODOS DE ESTERILIZACIÓN

“Comprende todos los procedimientos físicos, mecánicos y preferentemente químicos, que se emplean para destruir gérmenes patógenos. A través de esta, los materiales quirúrgicos y la piel del enfermo alcanzan un estado de desinfección que evita la contaminación operatoria.

³www.es.wikipedia.org/wiki/Esterilización

1.2.2.1. MÉTODOS FÍSICOS

a) ESTERILIZACIÓN POR CALOR HÚMEDO (VAPOR A PRESIÓN)

La utilización de este método y su eficacia depende de dos factores: el tiempo de exposición y la temperatura.

Todos los microorganismos son susceptibles, en distinto grado, a la acción del calor. El calor provoca desnaturalización y coagulación de sus proteínas celulares, procesos oxidantes irreversibles en los microorganismos.

Estos efectos se deben principalmente a dos razones:

- El agua es una especie química muy reactiva y muchas estructuras biológicas (DNA, RNA, proteínas, etc.) son producidas por reacciones que eliminan agua. Por lo tanto, reacciones inversas podrían dañar a la célula a causa de la producción de productos tóxicos. Además, las estructuras secundarias y terciarias de las proteínas se estabilizan mediante uniones puente de hidrógeno intramoleculares que pueden ser reemplazadas y rotos por el agua a altas temperaturas.
- El vapor de agua posee un coeficiente de transferencia de calor mucho más elevado que el aire. Por lo que, los materiales húmedos conducen el calor mucho más rápidamente que los materiales secos debido a la energía liberada durante la condensación.

El principal método de esterilización que emplea calor húmedo es la esterilización por vapor a presión.

La esterilización por vapor a presión se lleva a cabo en una **autoclave**. Es el método de esterilización por excelencia al presentar una elevada eficacia por su capacidad de penetración, fiabilidad, facilidad de monitorización, seguridad (ausencia de residuos tóxicos) y resultar el más económico de los sistemas tradicionales dentro de la esterilización microbiológica. Estos equipos emplean vapor de agua saturado, a una atmósfera de sobre presión lo que permite que la cámara alcance una temperatura de 121°C. El tiempo de esterilización usualmente es de 15 a 20 minutos, sin embargo, en algunas oportunidades, dadas las características del material, es necesario variar el tiempo de esterilización.

Cuando se utiliza este método es importante controlar en el autoclave la relación entre la temperatura, la presión y el tiempo de exposición, ya que éstos son factores críticos en el proceso, debido a que el el aire tiene influencia importante en la eficacia de la esterilización, porque su presencia puede modificar dichos factores , además, la existencia de bolsas de aire impedirá la penetración del vapor, de manera que debe eliminarse todo el aire que rodea y penetra en la carga antes de que pueda comenzar la esterilización por vapor. Sólo cuando el vapor se coloca bajo presión, es cuando su temperatura aumenta por encima de los 100°C y esto permite alcanzar las temperaturas de esterilización (121°C)

Éste es el método de elección para esterilizar materiales termoestables y no sensibles a la humedad como medios de cultivo, cultivos de microorganismos.

Entre sus desventajas están que no permite la esterilización de materiales sensibles al calor y materiales no miscibles con el agua, como es el caso de polvos, aceites y grasas.

Existen otros métodos de descontaminación que emplean este tipo de calor los cuales, aunque no permiten la destrucción total de los microorganismos, disminuyen la carga microbiana que posee un material.

Entre estos métodos podemos citar:

- Tindalización (esterilización fraccionada)
- Agua hirviendo
- Pasteurización
- Olla de presión

Ventajas del calor húmedo:

- Rápido calentamiento y penetración
- Destrucción de bacterias y esporas en corto tiempo
- No deja residuos tóxicos
- Hay un bajo deterioro del material expuesto
- Económico

Desventajas:

- No permite esterilizar soluciones que formen emulsiones con el agua
- Es corrosivo sobre ciertos instrumentos metálicos

b) ESTERILIZACION POR CALOR SECO

El calor seco produce desecación de la célula, es esto tóxico por niveles elevados de electrolitos, fusión de membranas. Estos efectos se deben a la transferencia de calor desde los materiales a los microorganismos que están en contacto con éstos. La acción destructiva del calor sobre proteínas y lípidos requiere mayor temperatura cuando el material está seco o la actividad de agua del medio es baja.

La esterilización por calor seco se lleva a cabo en estufas en la cual el aire caliente generado por una resistencia, circula por la cavidad principal y por el espacio entre ambas cámaras, a temperatura de 170° C para el instrumental metálico y a 140° C para el contenido de los tambores.

Se mantiene una temperatura estable mediante termostatos de metal, que al dilatarse por el calor, cortan el circuito eléctrico.

Ventajas del calor seco:

- No es corrosivo para metales e instrumentos.
- Permite la esterilización de sustancias en polvo y no acuosas, y de sustancias viscosas no volátiles.

Desventajas:

- Requiere mayor tiempo de esterilización, respecto al calor húmedo, debido a la baja penetración del calor.

c) **RADIACIONES**

Su acción depende de:

- El tipo de radiación
- El tiempo de exposición
- Dosis

Ionizantes:

Producen iones y radicales libres que alteran las bases de los ácidos nucleicos, estructuras proteicas y lipídicas, y componentes esenciales para la viabilidad de los microorganismos. Tienen gran penetrabilidad y se las utiliza para esterilizar materiales termolábiles (termosensibles) como jeringas descartables, sondas, etc. Se utilizan a escala industrial por sus costos.

Rayos Ultravioletas:

Afectan a las moléculas de DNA de los microorganismos. Son escasamente penetrantes y se utilizan para superficies, se utilizan para la esterilización en quirófanos.

Rayos Gamma:

Su empleo está basado en los conocimientos sobre la energía atómica. Este tipo de esterilización se aplica a productos o materiales termolábiles y de gran importancia en el campo industrial. Puede esterilizar antibióticos, vacunas, alimentos, etc.

d) FILTRACIÓN

Se usan membranas filtrantes con poros de un tamaño determinado. El tamaño del poro dependerá del uso al que se va a someter la muestra. Los filtros que se utilizan no retienen virus ni mico plasmas, estos últimos están en el límite de separación según el diámetro de poro que se utilice.

La filtración se utiliza para emulsiones oleosas o soluciones termolábiles. Su uso para esterilizar aceites, algunos tipos de pomadas, soluciones oftálmicas, soluciones intravenosas, drogas diagnósticas, radiofármacos, medios para cultivos celulares, y soluciones de antibióticos y vitaminas.

Existen tres tipos básicos de filtros:

Filtros profundos o Filtros de profundidad:

Consisten de un material fibroso o granular prensado, plegado, activado, o pegado dentro de los canales de flujo. En este tipo de filtros la retención de las partículas se produce por una combinación de absorción y de retención mecánica en la matriz.

Membranas filtrantes.

Tienen una estructura continua, y la retención se debe principalmente al tamaño de la partícula. Partículas más pequeñas al tamaño del poro quedan retenidas en la matriz del filtro debido a efectos electrostáticos.

Filtros de huella de nucleación (Nucleoporo).

Son películas muy delgadas de policarbonato que son perforadas por un tratamiento conjunto con radiación y sustancias químicas. Son filtros con orificios muy regulares que atraviesan la membrana verticalmente. Funcionan como tamices, evitando el paso de toda partícula con un tamaño mayor al del poro.

Comprende todos los procedimientos físicos, mecánicos y preferentemente químicos, que se emplean para destruir gérmenes patógenos.

1.2.2.2. MÉTODOS QUÍMICOS

Estos métodos provocan la pérdida de viabilidad de los microorganismos. Dentro de los compuestos químicos podemos encontrar agentes esterilizantes, desinfectantes y antisépticos.

La efectividad de estos agentes depende de las condiciones bajo las que actúan.

Concentración: varía con el tipo de agente y de microorganismo, pues una misma concentración del agente puede producir un efecto diferente en distintos microorganismos.

Tiempo: los microorganismos no son susceptibles a un agente en la misma forma, por lo que no todos los microorganismos mueren al mismo tiempo.

pH: afecta tanto a los microorganismos como a los agentes químicos. El aumento de pH por encima de 7 incrementa la carga negativa de los microorganismos afectando la

concentración del agente sobre la célula. El pH determina el grado de disociación y la efectividad del agente químico, pues a menor disociación mayor permeabilidad y mayor efectividad.

a) ESTERILIZACIÓN POR GAS DE ÓXIDO DE ETILENO

Es un proceso de esterilización a baja temperatura (30-60°C) mediante el cual se somete a los microorganismos a la acción química del Óxido de Etileno. Se presenta como gas o líquido incoloro, puro o con mezcla (en general, con freón). Penetra con facilidad a través de materiales de goma y plástico en estado gaseoso. Es un agente esterilizante muy eficaz. Esteriliza todos los materiales termo sensibles que no se pueden esterilizar con vapor. El material esterilizado requiere aireación para que se eliminen los residuos del gas. La duración del ciclo es de 90 minutos y el periodo de aireación suele ser de 12 horas.

Es inflamable, tóxico, reactivo y además cancerígeno, por lo que se necesita formación adecuada para su utilización, con el fin de evitar riesgos para la salud.

La limitación más importante de este sistema es el periodo de aireación necesario para eliminar la toxicidad.

b) ESTERILIZACIÓN POR GAS-PLASMA DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

Proceso de esterilización a baja temperatura que consiste en la difusión de peróxido de hidrógeno en fase plasma (estado entre líquido y gas), que ejerce la acción biocida. El peróxido de hidrógeno no deja ningún residuo tóxico. Se convierte en agua y oxígeno al

final del proceso. El material no precisa aireación. El ciclo de esterilización dura entre 54 y 75 minutos.

Limitaciones: no se pueden esterilizar objetos que contengan celulosa, algodón, líquidos, humedad, madera o instrumental con lúmenes largos y estrechos. Es el método de esterilización más caro de entre los descritos.

Ventajas:

- No deja ningún residuo tóxico
- Se convierte en agua y oxígeno al final del proceso.
- El material no precisa aireación.
- El ciclo de esterilización dura entre 54 y 75 minutos.

Desventajas:

- No se pueden esterilizar objetos que contengan celulosa, algodón, líquidos, humedad, madera o instrumental con lúmenes largos y estrechos.
- Es el método de esterilización más caro de entre los descritos.

c) ESTERILIZACIÓN POR FORMALDEHÍDO

Es un sistema que utiliza formaldehído al 2% con vapor a baja temperatura en vacío, pueden esterilizar materiales de látex, goma, plásticos, etc. Es más tóxico que el Óxido de Etileno y no está claramente demostrada su eficacia, por lo que es el sistema de esterilización menos usado.

d) CON ALDEHÍDOS:

Son agentes alquilantes que actúan sobre las proteínas, provocando una modificación irreversible en enzimas e inhiben la actividad enzimática. Estos compuestos destruyen las esporas.

e) GLUTARALDEHÍDO:

Consiste en preparar una solución alcalina al 2% y sumergir el material a esterilizar de 20 a 30 minutos, y luego un enjuague de 10 minutos. Este método tiene la ventaja de ser rápido y ser el único esterilizante efectivo frío. Puede esterilizar plástico, goma, vidrio, metal, etc.⁴

1.3. AUTOCLAVE

“Es el equipo que se utiliza para esterilizar, por esterilizar se entiende la destrucción o eliminación de toda forma de vida microbiana, incluyendo esporas– presente en objetos inanimados mediante procedimientos físicos o químicos. La palabra esterilizador proviene de la palabra latina *sterilis* que significa no dar fruto.

1.3.1. EQUIPO:

El más común es en forma de olla de presión, consta de una caldera de acero, sostenida por una camisa externa metálica, la misma que recubre el aislante térmico, en la parte inferior se encuentra el agua de fondo la cual recibe calor por combustión de mecheros de gas exteriores o por una resistencia eléctrica o un serpentín de vapor, tiene una cámara vertical

⁴ [html.rincondelvago.com/autoclave de vapor.html](http://html.rincondelvago.com/autoclave-de-vapor.html)

de metal provista de una tapa metálica fuerte que se aprieta y cierra herméticamente mediante un aro de goma. Esta tapa posee tres orificios, uno para el manómetro, otro para el escape del aire y el vapor en forma de robinete y el tercero, para una válvula de seguridad que funciona por contrapeso o a resorte.



Fig.1.3-1. Esquema de una autoclave

1.3.2. CONTEXTO HISTÓRICO DEL AUTOCLAVE

El primer autoclave reconocido como tal, fue creado en la época moderna después de la revolución industrial, pero su invención deriva de una serie de acontecimientos que nos

relacionan con la industria pues las razones para crear esta tecnología viene desde el inicio de la historia de la humanidad, donde se estableció la relación de la causa de muchas enfermedades con la existencia de gérmenes patógenos.

Las investigaciones de científicos como Pasteur y Lister en el siglo XIX permitieron establecer las primeras prácticas de asepsia iniciando así la aceptación de los instrumentos quirúrgicos, las manos de los cirujanos y los ayudantes y las ropas quirúrgicas, lo que redujo la mortalidad del 45% al 19% y dejó en claro la relación entre los microorganismos y la infección hacia 1878.

Por esta razón se ve la necesidad de fabricar una máquina que elimine los microorganismos infecciosos del instrumental, dando origen a lo que se podría llamar la primera autoclave que se fabrica en 1879, se trataba de un aparato portátil con 6 litros de capacidad calentado por el alcohol.

En la actualidad, a raíz de las investigaciones mencionadas anteriormente, el sistema de autoclave es una aplicación estricta en los hospitales, en los procesos de limpieza, de desinfección y esterilización brindando seguridad a los pacientes y a los trabajadores de la salud, también es utilizada en la industria de los alimentos y en fin de todo laboratorio que implique esterilización total de microorganismos patógenos; como es nuestro caso, para que las formulaciones de microorganismos antagonistas destinados al control biológico de plagas y enfermedades en plantas y suelos sean realmente confiables para ser aplicados.

1.3.3. PARTES PRINCIPALES DEL AUTOCLAVE

- ✓ Tapa
- ✓ Válvula de seguridad y de acción
- ✓ Válvula de escape de aire y vapor
- ✓ Tuercas cilíndricas de seguridad: Sirven para sellar la tapa con el armazón
- ✓ Cámara N°2: Es donde se deposita el material a esterilizar
- ✓ Trípode
- ✓ Cámara N°1: Lugar donde se coloca el agua que se transformara en vapor.
- ✓ La resistencia: Es la parte inferior dentro del armazón y conduce el calor
- ✓ El armazón: Es la parte exterior es el cuerpo de la autoclave
- ✓ Selector de encendido y apagado
- ✓ Manómetro: Sirve para medir la presión de fluidos en recipientes cerrados
- ✓ Termómetro
- ✓ Temporizador
- ✓ Quemador a gas

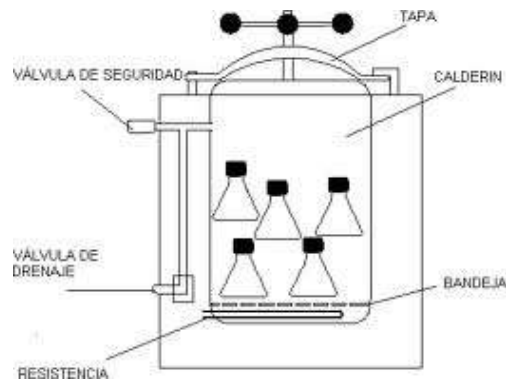


Fig.1.3.3-1. Esquema de las partes de una autoclave

1.3.4. FUNCIONAMIENTO DEL AUTOCLAVE

Las autoclaves son equipos que trabajan aprovechando las propiedades termodinámicas del agua, funciona usando vapor a presión para realizar la esterilización, esto es la cantidad de calor requerido para convertir el agua hirviendo en vapor. Esta cantidad de calor es grande comparada con la requerida para hacer agua caliente. Por ejemplo, se necesita 80 Kcal para hacer hervir un litro, pero en cambio se necesita 540 Kcal para convertir aquella agua hirviendo en vapor.

El vapor entra en la recámara fluye hacia arriba, hacia abajo y la carga, esto empuja el aire que sale. Un regulador de presión de cámara a un mínimo de 15 psi, que es la presión requerida para que el vapor pueda alcanzar 121 °C. Una válvula de seguridad proporciona la protección frente a un exceso de presión. Las condiciones térmicas dentro de las cámaras controladas para que el calor llegue a los 121°C y mantenerse en esta temperatura durante el tiempo seleccionado.

Las condensaciones siguen mientras que la temperatura de la superficie en donde se condensa es menos que la temperatura del vapor; una vez las temperaturas se equilibran, se forma un ambiente de vapor saturado.

Alcanzar un alto contenido de humedad en el ambiente. La habilidad del aire para llevar calor está relacionada directamente con la cantidad de humedad presente en el aire. Cuanto más humedad haya en el ambiente, más calor puede ser arrastrado por el aire, por lo tanto el vapor por lo tanto también causa la muerte eficiente de células y la coagulación (solidificar) de proteínas.

Esta explicación es genérica que podría ser aplicada en cualquier autoclave de vapor. ”⁵

1.3.5. FACTORES PRINCIPALES QUE INTERVIENEN EN LA ESTERILIZACION POR VAPOR (CALOR HUMEDO)

“Cada tipo de bacteria tiene su resistencia específica a calor, pero todas las bacterias de un mismo tipo no son rigurosamente idénticas, por lo que no se puede decir que tal bacteria resista tanto tiempo a una temperatura determinada o que al llegar a esta temperatura todas las bacterias perecerían.

Cuando un grupo o colonia de bacterias es sometido a un sistema de esterilización por calor húmedo o seco a una temperatura determinada, tiene dificultades para seguir viviendo y una tras otra las bacterias van muriendo.

En ensayos de laboratorio ha sido posible estudiar cuantitativamente la supervivencia de las bacterias al ser sometidas al calor, llegándose a establecer los dos siguientes principios:

Primer principio: cuanto más tiempo es sometido a un grupo de bacterias a una temperatura determinada, mas bacterias mueren.

Segundo principio: Cuanta más alta es la temperatura a la que se someten las bacterias, más rápido se mueren.

1.3.5.1.FACTOR D (tiempo)

Como valoración del primer principio, se ha establecido el concepto “Factor D”, que es el tiempo necesario a una temperatura concreta para que muera el 90% de las bacterias, o lo

⁵CIANCIO., P., Recipientes a Presión Argentina., 2004., Pp. 18-25-275-305.

que es lo mismo, sobreviva solo el 10%. Dado que el tiempo necesario para matar las bacterias disminuye con la temperatura.

TABLA 1.3.5.1-1.

Factor D (tiempo)

Tiempo en minutos	0	8	16	24	32	40	48
Supervivientes	10.000	1.000	100	10	1	0,1	0,01

Observamos que al cabo de 48 minutos queda 0,01 bacterias vivas. Es obvio que una bacteria está viva o está muerta, lo que no puede es estar 0,01 viva. Digamos que tenemos una posibilidad de entre 100 que quede alguna bacteria viva.

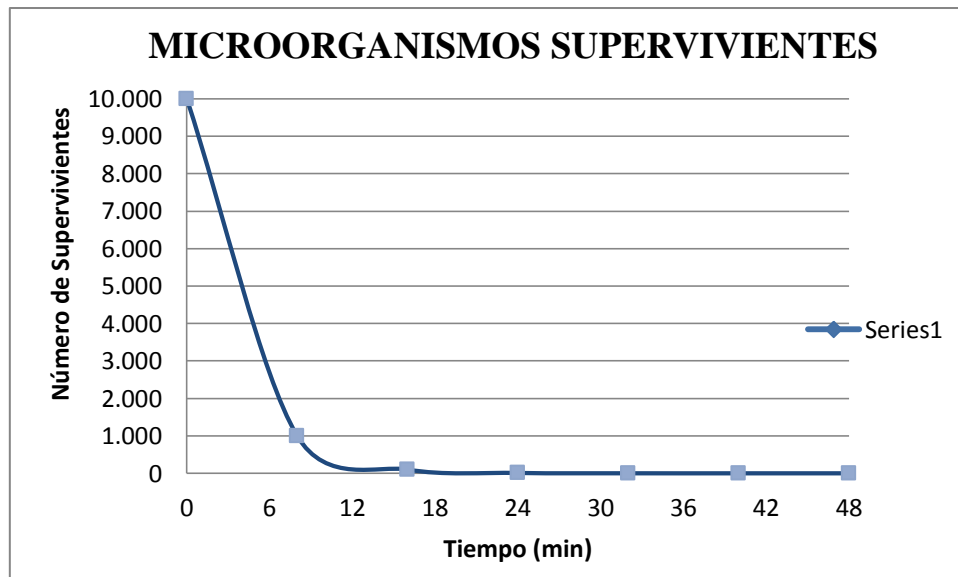


Fig1.3.5.1-2. Microorganismos Supervivientes

1.3.5.2. Factor Z (Temperatura)

Como valoración del segundo principio se ha establecido el “Factor Z” que se define como el aumento de temperatura necesaria para que las muertes se produzcan 10 veces más rápido o lo que es lo mismo que el factor D sea 10 veces más pequeño.

Expliquémoslo también, siguiendo con el mismo ejemplo. La población de nuestra bacteria queda diezmada, dividida por 10, al cabo de 8 minutos a 115 °C hacemos nuevos ensayos aumentando la temperatura hasta conseguir que siga muriéndose el 90% de las bacterias, pero en 0,8 minutos en lugar de 8. Es decir, se mueren 10 veces más a prisa. Si esta temperatura es, por ejemplo, de 125 °C diremos que al factor Z para esta bacteria vale 10 °C diferencia entre 125 y 115 °C.

Igual que sucedió con el factor D, también se ha comprobado que si aumentamos la temperatura otros 10°C. Más, la muerte del 90% de la población se producirá en diez veces menos tiempo, es decir en 0,08 minutos y así sucesivamente. Pongámoslo también en una tabla.

TABLA 1.3.5.2-1.
Factor (temperatura)

Temperatura	105	115	125	135	145
Tiempo en minutos para aniquilar	80	8	0,8	0,08	0,008

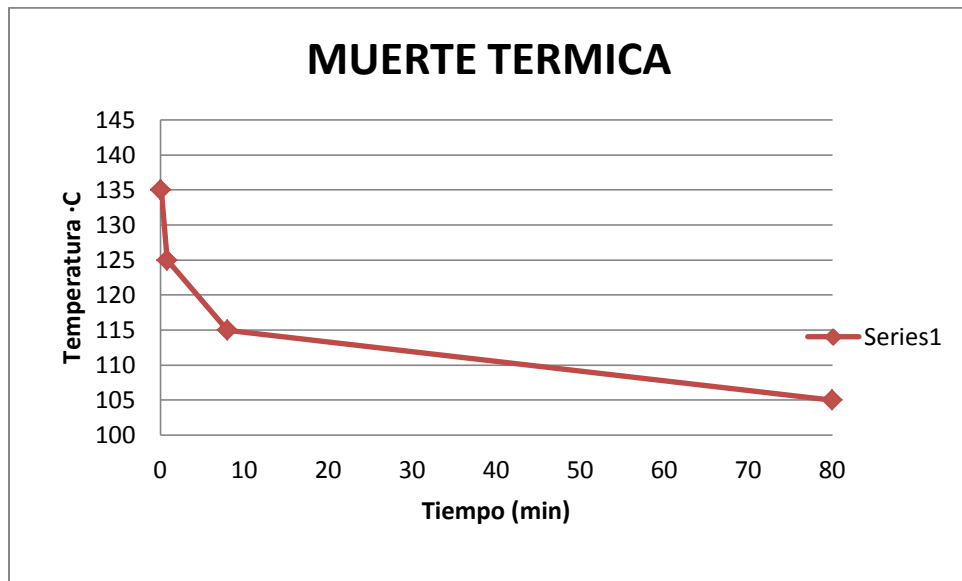


Fig. 1.3.5.2-2. Muerte térmica

1.3.5.3. FACTOR F (Temperatura de referencia)

Con el fin de poder comparar resultados y establecer los parámetros de un proceso de esterilización, surgió la necesidad de fijar una temperatura de referencia, ver qué sucede a esta temperatura y comparar los resultados a otras temperaturas con los obtenidos a la temperatura de referencia.

Las temperaturas de referencia adoptadas para los distintos procesos son los siguientes:

TABLA 1.3.5.3-1.

Factor F (temperatura de referencia)

PROCEDIMIENTO	TEMPERATURADEREFERENCIA
Esterilización por calor húmedo	121°C
Esterilización por calor seco	170°C
Despirogenación por calor seco	250°C

Una vez establecida una temperatura de referencia, se puede estudiar con un ejemplo la

forma de trabajar. Si hiciésemos el cálculo del factor D121 de la bacteria del ejemplo anterior, saldría aproximadamente 2 minutos. Esto significa que cada 2 minutos a 121°C la población de bacterias se ve dividida por 10.

Si el producto que se desea esterilizar está contaminado con una población de la bacteria

De ejemplo de 100.000 unidades y deseamos establecer un proceso de esterilización que garantice que al final del mismo una posibilidad de entre mil (0,001) de que quede alguna bacteria viva, tendremos que dividir la población:

$$\frac{100.000}{0.001} = 100.000.000 \text{ veces}$$

Como cada dos minutos dividimos por 10, deberemos dividir 8 veces por 10.

$$10 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10 \times 10 = 10^8 = 100.000.000$$

Por lo que el proceso deberá mantenerse durante 8 periodos de 2 minutos:

$$2 * 8 = 16 \text{ minutos}$$

1.3.5.4. FACTOR F0

Que sucede si se desea acelerar el proceso de esterilización y el material que vamos a esterilizar puede soportar 131°C, pero no más.

Aquí nace el concepto de F₀. Anteriormente se ha explicado que el factor Z de la bacteria es 10 °C, lo que significa que aumentando la temperatura 10°C, será necesario 10 veces menos tiempo para conseguir el mismo efecto esterilizante. Ósea que a 131°C necesitaremos 1.6

minutos en lugar de 16 necesarios a 121°C. dicho de otra forma, cada minuto que se mantenga los 131°C, producirá el mismo efecto que 10 minutos a la temperatura de referencia, que es 121°C. Por lo que el $F_0 (131) = 10$.

El valor F_0 a una temperatura dice que cada minuto esta temperatura tiene el mismo efecto esterilizante que F_0 minutos a la temperatura de referencia. Estos valores dependen del factor Z y pueden ser calculados para cualquier temperatura. Si hablamos de esterilización por calor seco se emplea el concepto equivalente F_h y se trata de despirogenación F_t . Estos dos últimos factores no son relevantes en este proyecto por lo que se va a omitir su explicación.

1.3.6. FACTORES SECUNDARIOS QUE INTERVIENEN EN LA ESTERILIZACION POR VAPOR (CALOR HUMEDO)

La eficacia de la esterilización por calor húmedo depende de la temperatura y del tiempo, estos dos han sido explicados anteriormente. No obstante existen otros factores que intervienen en el proceso de esterilización y hay que tenerlos en cuenta.

1.3.6.1. CONTENEDORES SECUNDARIOS

Habitualmente los segundos contenedores utilizados son de vidrio de plástico. Pero no hay que olvidar que la naturaleza de los contenedores altera el proceso. Los frascos de polipropileno son mejores que los de polietileno y poliestireno y que soportan el proceso sin fundirse. También hay que tener en cuenta que la utilización de frascos de plástico aumenta el tiempo del proceso de la autoclave ya que el plástico es un buen aislador.

Siempre que se use una bandeja de plástico hay que añadir 5 minutos más el proceso. Los contenedores de acero inoxidable aparte de ser más duraderos aguantan mejor el calor y pueden disminuir el tiempo de proceso. Hay que tener en cuenta que si se usa un contenedor demasiado profundo puede obstaculizar la llegada de aire al fondo del recipiente. También hay que asegurarse de que el aire pueda fluir alrededor del segundo recipiente.

1.3.6.2.VOLUMEN

Obviamente a más volumen en más tiempo de esterilización. Generalmente el volumen es el parámetro más importante que hay que considerar.

Un frasco de dos litros que contiene en un litro tiene un tiempo de proceso más largo que cuatro frascos de medio litro con 250 ml cada uno.

1.3.6.3.PAQUETES ENVUELTOS HERMETICAMENTE

El aire y el vapor se mezclan fácilmente. El aire siendo más pesado que el vapor se desplaza a la parte inferior de la cámara del esterilizador y fuerza a este a realizar un drenaje. Si se envuelve los paquetes demasiado herméticamente el aire queda atrapado y puede producir que en ciertas zonas no alcance la temperatura necesaria para matar todos los microorganismos.

1.3.7. LLENADO DE LA CAMARA

Esto es un factor tan importante como el embalaje. La cámara no puede estar sobrecargada. Una cámara con sobrecarga aumenta el proceso de esterilización. Así mismo la colocación

de los frascos se debe hacer de una manera que permita la circulación de vapor dentro de la cámara.

1.3.8. EL AGUA EN EL PROCESO DE ESTERILIZACION.

El equipo del proyecto utiliza vapor de agua saturada para la esterilización es importante tener unas nociones del comportamiento del agua y su transformación al vapor.

Todos los cuerpos, sólidos o fluidos (líquidos y gases), están formados por moléculas, siendo estas la parte más pequeña de este cuerpo sin que pierda sus propiedades químicas. Las moléculas de un sólido están unas junto a otras, digamos que apretujadas y unidas unas a otras por atracciones intermoleculares, sin posibilidad de moverse. En cambio, las moléculas de los fluidos, no solo pueden moverse, sino que se están moviendo continuamente. Un fluido es un continuo ir y venir de moléculas que chocan unas con otras y contra las paredes del recipiente que las contiene.

Si se calienta agua y la temperatura es suficientemente alta, el líquido se va transformando en vapor dentro del propio líquido y entonces se habla de ebullición. La temperatura a la que el líquido empieza a hervir se le llama **temperatura de ebullición**.

Si se tiene un líquido en un recipiente cerrado y se calienta a una temperatura determinada, se irán evaporando parte de sus moléculas y ocuparán la parte superior del recipiente, aumentando la presión en el mismo, hasta que el número de moléculas que se evaporan sea igual al de moléculas de vapor que regresan al líquido. La presión que haya en este momento de equilibrio es la que se llama **“tensión de vapor”** a la temperatura del ensayo.

Si aumenta la temperatura del fluido, la velocidad de sus moléculas aumenta y por lo tanto la presión. Por consiguiente a mas temperatura mayor tensión de vapor. La cantidad de calor se mide en calorías. Una cosa es calentar agua y otra muy distinta es evaporarla, es decir que las moléculas tengan la velocidad suficiente para poder abandonar el líquido.

El agua a nivel del mar hierve a 100 °C, pero en la cima de una montaña hierve a menos temperatura. Ello es debido a que al ser menor la presión atmosférica en lo alto de la montaña, la tensión de vapor del agua se iguala a la presión del aire a una temperatura inferior a los 100 °C.

Si se tiene agua en un recipiente cerrado y se extrae el aire del recipiente el agua se pondrá a hervir a unas temperaturas sorprendentemente bajas. En la siguiente tala se observa las tensiones de vapor del agua a diferentes temperaturas por debajo del 100°C, o lo que es lo mismo, la temperatura a la que hierve el agua a distintas presiones.

TABLA. 1.3.7-1.
TENSIÓN DE VAPOR DEL AGUA POR DEBAJO DE 100 °C

°C	Bar	kg/cm ²
10	0,013	0,013
20	0,024	0,024
30	0,043	0,044
40	0,074	0,076
50	0,124	0,127
60	0,199	0,203
70	0,312	0,318
80	0,474	0,484
90	0,701	0,714
100	1,013	1,033

El vapor de agua cuando se encuentra solo, sin aire u otros gases, y sin ningún aporte de calor externo, se le llama vapor saturado o seco”⁶

1.3.9. PROCESO DE ESTERILIZACION POR VAPOR (CALOR HUMEDO)

Durante el proceso de esterilización por calor debe tenerse en cuenta que el tiempo de esterilización comienza cuando se ha alcanzado la temperatura óptima en el interior del aparato (autoclave) y que generalmente el contenido de un autoclave puede requerir tiempos más largos para alcanzar la temperatura de esterilización.

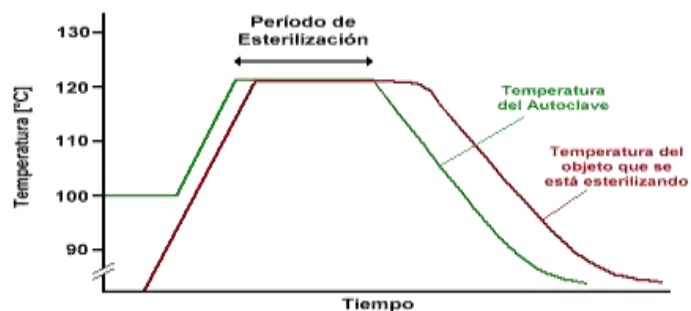


Fig.1.3.9-1. Proceso de esterilización por vapor

1.3.10. TIPOS DE VAPOR DE AGUA

Si el agua es calentada por sobre su punto de ebullición, esta se convierte en vapor, o agua en estado gaseoso. Sin embargo, no todo el vapor es el mismo. Las propiedades del vapor varían de gran forma dependiendo de la presión y la temperatura a la cual está sujeto.

⁶www.es.wikipedia.org/wiki/Autoclave

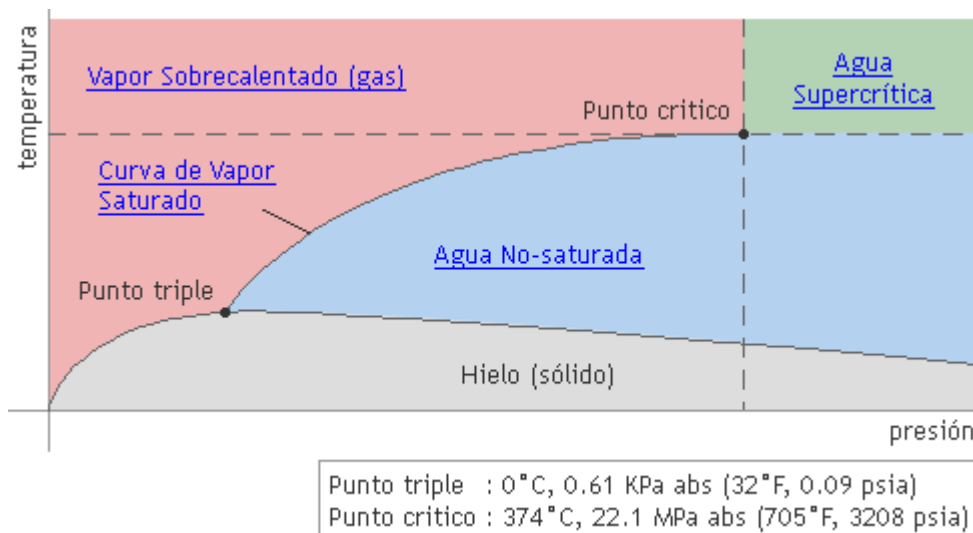


Fig.1.3.10-1. Relación Presión-Temperatura del Agua y Vapor

Los resultados del vapor saturado (seco) cuando el agua es calentada al punto de ebullición (calor sensible) y después evaporada con calor adicional (calor latente). Si este vapor es posteriormente calentado por arriba del punto de saturación, se convierte en vapor sobrecalentado (calor sensible).

VAPOR SATURADO

Como se indica en la línea negra en la parte superior de la gráfica, el vapor saturado se presenta a presiones y temperaturas en las cuales el vapor (gas) y el agua (liquido) pueden coexistir juntos. En otras palabras, esto ocurre cuando el rango de vaporización del agua es igual al rango de condensación.

Ventajas de usar vapor saturado para calentamiento

El vapor saturado tiene varias propiedades que lo hacen una gran fuente de calor, particularmente a temperaturas de 100 °C (212°F) y más elevadas. Algunas de estas son:

TABLA. 1.3.10-2.

VENTAJAS DEL VAPOR SATURADO

Propiedad	Ventaja
Calentamiento equilibrado a través de la transferencia de calor latente y Rapidez	Mejora la productividad y la calidad del producto
La presión puede controlar la temperatura	La temperatura puede establecerse rápida y precisamente
Elevado coeficiente de transferencia de calor	Área de transferencia de calor requerida es menor, permitiendo la reducción del costo inicial del equipo
Se origina del agua	Limpio, seguro y de bajo costo

VAPOR SOBRECALENTADO

El vapor sobrecalentado se crea por el sobrecalentamiento del vapor saturado o húmedo para alcanzar un punto mayor al de saturación. Esto quiere decir que es un vapor que contiene mayor temperatura y menor densidad que el vapor saturado en una misma presión.

El vapor sobrecalentado es usado principalmente para el movimiento-impulso de

aplicaciones como lo son las turbinas, y normalmente no es usado para las aplicaciones de transferencia de calor.

Mientras retenga su estado de sobrecalentamiento, el vapor sobrecalentado no se condensara aun cuando entre en contacto con la atmosfera y su temperatura descienda. Como resultado, no se forman nubes de vapor. El vapor sobrecalentado almacena más calor que el vapor saturado a la misma presión, y el movimiento de sus moléculas es mucho más rápido por lo tanto tiene menor densidad

TABLA. 1.3.10-3.
DESVENTAJAS DEL VAPOR SOBRECALENTADO

Propiedad	Desventaja
Bajo coeficiente de transferencia de calor	Reduce la productividad
	Se requiere un superficie mayor para la transferencia de calor
Temperatura variable aun a una presión constante	El vapor sobrecalentado requiere mantener una velocidad elevada, de lo contrario la temperatura disminuirá ya que se perderá el calor del sistema
Calor sensible utilizado para la transferencia de calor	Las caídas de temperatura pueden tener un impacto negativo en la calidad del producto
La temperatura podría ser extremadamente elevada	Se podrían requerir materiales más fuertes para la construcción de equipos, requiriendo un mayor costo inicial.

Por estas y otras razones, se prefiere al vapor saturado por sobre el vapor sobrecalentado como medio de calentamiento en intercambiadores de calor y otros equipos de transferencia de calor. Por otro lado, desde el punto de vista de usarlo como fuente de calor para un

calentamiento directo como un gas de alta temperatura, tiene algunas ventajas por sobre el aire caliente como que puede ser usado como fuente de calentamiento bajo las condiciones de libre de oxígeno.

1.3.11. EL AIRE EN EL AUTOCLAVE

“El peor enemigo a la hora de conseguir una temperatura homogénea en un autoclave para esterilización por vapor es el aire. El aire, allí donde este mezclado con el vapor, provocara un descenso de la temperatura respecto de los puntos donde está el vapor puro.

Hay dos maneras para razonar la eliminación del aire de la cámara de esterilización.

- a) Como quiera que el aire dentro del rango de temperaturas a la que trabajan las autoclaves, es más pesado que el vapor, será suficiente entrar el vapor por la parte baja d la cámara y poner una purga en la parte superior por la que ira saliendo wl aire.
- b) Dado que se dispone de sistemas para hacer vacío, primero se saca todo el aire de la cámara y posteriormente se introduce el vapor.

Para conseguir que un lote de producto quede estéril y poder garantizar que todos los puntos del mismo han sido sometidos durante el tiempo fijado, idénticas a muy parecidas condiciones de trabajo.

Los equipos utilizados para esterilizar, autoclaves en el caso del calor húmedo y del óxido de etileno y estufas en el caso del aire caliente, deben estar diseñados y estar dotados de

todos los elementos de control necesarios para poder asegurar que lo dicho en el apartado anterior se cumple.

La eficacia de la esterilización por calor húmedo o por calor seco depende de la temperatura y del tiempo.

La eficacia de la esterilización con peróxido de etileno depende de la temperatura, del grado de humedad, concentración, energía y del tiempo.

En cada uno de los casos, el criterio de rigidez que debe adoptarse en cuanto a la constancia de los parámetros mencionados, dependerá de la influencia que una variación de los mismos tenga sobre el resultado final del proceso”⁷

1.3.12. AUTOCLAVES DE VAPOR

“Existen dos tipos generales de esterilizadores de vapor: los que funcionan mediante un desplazamiento de gravedad, en las cuales los flujos de aire salen hacia afuera de la cámara por una válvula de escape activada por vapor, y las que funcionan por el pre-vacío, en las cuales se realiza un vacío de aire a la cámara antes de inyectar vapor. En ambos casos cuando el aire de la cámara es remplazado por vapor aumenta la temperatura de la cámara.

1.3.13. SEGURIDAD

Uno de los riesgos principales en los dispositivos a presión como las autoclaves, es la liberación brusca de presión y los danos que esta puede ocasionar.

⁷[html.rincondelvago.com/autoclave de vapor.html](http://html.rincondelvago.com/autoclave-de-vapor.html)

El principal riesgo que presentan los recipientes a presión son las explosiones, las cuales se pueden clasificar en:

- Explosiones físicas por rotura de las partes a presión: se produce por la vaporización instantánea y la expansión brusca del agua contenida en el generador, como efecto de la rotura producida en un elemento sometido a presión.
- Explosión química en el hogar (parte interna del recipiente): producida por la combustión instantánea de los vapores del combustible acumulado en el interior.

Para evitar cualquier riesgo inminente y que se ponga en peligro la integridad física del equipo y del personal que lo manipula se recomienda tomar en cuenta estas consideraciones.

1.3.14. PREVENCIÓN DE FALLAS

La autoclave debe ser inspeccionada y monitoreada continuamente para identificar posibles fallas que puedan causar algún accidente. Además de hacer una inspección visual del mismo se debe verificar el buen estado de las válvulas y tuercas de seguridad.

Entre los puntos de seguridad física y operativas del autoclave podemos citar:

- El recipiente debe ser ubicado en un lugar estable y seguro, resguardado contra impactos.
- El sistema de soporte del equipo debe mantenerse en condiciones tales que no afecten la operación segura del equipo.

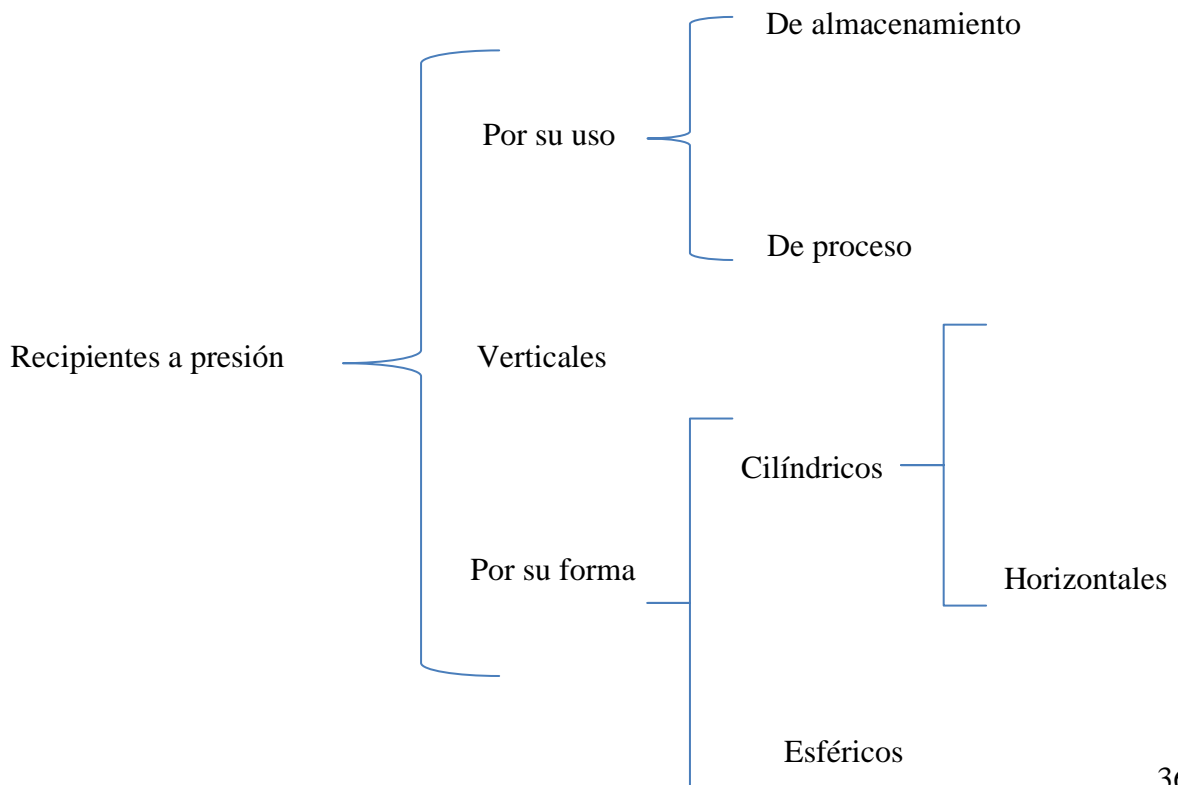
- El equipo debe disponer de espacio libre necesario para las actividades de operación, mantenimiento y revisión.

La seguridad se debe comprobar antes del arranque y después del paro total del autoclave, verificando que no exista ninguna fuga; además que todos los elementos funcionen correctamente incluyendo válvulas y conexiones. Durante la operación no se debe exceder la presión máxima de diseño, y cualquier cambio o modificación hecha debe ser registrada y comprobada, que no ponga en peligro la composición del equipo.

El objetivo primario del código ASME es la seguridad de los usuarios”⁸

1.4. TIPOS DE RECIPIENTES A PRESION

“Los diferentes tipos de recipientes a presión que existen se clasifican de la siguiente manera:



1.4.1. POR SU USO

Por su uso los podemos dividir en recipientes de almacenamiento y en recipientes de proceso.

Los primeros nos sirven únicamente para almacenar fluidos a presión y de acuerdo con su servicio son conocidos como tanques de almacenamiento, tanques de día, tanques acumuladores, etc.

Los recipientes a presión de procesos tienen múltiples y muy variados usos, entre ellos podemos citar los intercambiadores de calor, los reactores, torres fraccionadoras, torres de destilación, etc.

1.4.2. POR SU FORMA

Por su forma, los recipientes a presión pueden ser cilíndricos o esféricos.

Los primeros pueden ser horizontales o verticales, y pueden tener en algunos casos chaquetas para aumentar o decrecer la temperatura de los fluidos según sea el caso.

Los recipientes esféricos se utilizan generalmente como tanques de almacenamiento, y se recomienda para almacenar grandes volúmenes a altas presiones.

Puesto que la forma esférica es la forma natural que toman los cuerpos al ser sometidos a presión interna, esta sería la forma más económica para almacenar fluidos a presión, sin

embargo, la fabricación d este tipo de recipientes es mucho más cara en comparación con la de recipientes cilíndricos.

1.4.3. TIPOS DE TAPAS

Para cerrar recipientes cilíndricos se utilizan varios tipos de tapas, entre otras tenemos las siguientes:

Tapas planas, planas con ceja, únicamente abombadas, abombadas con ceja invertida, toriesféricas, semihelípticas, semiesféricas, etc.

Las características principales y usos de estas tapas son:

1.4.3.1. TAPAS PLANAS

Se utilizan para cerrar recipientes sujetos a presión atmosférica, generalmente su costo entre las tapas es el más bajo.

1.4.3.2. TAPAS PLANAS CON CEJA

Igual que las anteriores se usa para presión atmosférica, su costo es relativamente bajo y tienen un límite dimensional de 6 m de diámetro máximo.

1.4.3.3. TAPAS ABOMBADAS

Son empleadas en recipientes a presión manométrica relativamente baja, su costo puede considerarse bajo, sin embargo si se usan para soportar presiones relativamente altas será

necesario analizar la concentración de esfuerzos generada al realizar un cambio brusco de dirección

1.4.3.4. TAPAS ABOMBADAS CON CEJA INVERTIDA

Su uso es limitado debido a su difícil elaboración, su costo es alto, siendo empleadas únicamente en casos especiales.

1.4.3.5. TAPAS TORIESFERICAS

Son las que mayor aceptación tienen en la industria, debido a su bajo costo y a que soportan altas presiones manométricas. se pueden fabricar en diámetros de 0.3 hasta 6 metros.

1.4.3.6. TAPAS SEMIHELPTICA

Son empleadas cuando el espesor calculado de una tapa toriesférica es relativamente alta, ya que las tapas semihélicas soportan mayores presiones que las toriesféricas, el proceso de fabricación de estas tapas es el troquelado.

1.4.3.7. TAPAS SEMIESFÉRICAS

Utilizadas exclusivamente para soportar presiones críticas, como su nombre lo indica, su silueta describe una media circunferencial perfecta, su costo es alto y no hay límite dimensional para su fabricación.

1.4.3.8. TAPAS CÓNICAS

Se utilizan generalmente en fondos donde pudiese haber acumulación de sólidos y como transiciones en cambios de diámetro de recipientes cilíndricos.

Su uso es muy común en torres fraccionadoras o de destilación, no hay límite en cuanto a dimensiones para su fabricación y su única limitación consiste en que el ángulo del vértice no deberá ser mayor de **60°**. Las tapas cónicas con ángulo mayor de **60°** en el vértice, deberán ser calculadas como tapas planas. Deberá tenerse la precaución de reforzar las uniones **cono-cilindro** de acuerdo al procedimiento.

1.4.3.9. TAPAS TORICÓNICAS

A diferencia de las tapas cónicas, este tipo de tapas tienen en su diámetro mayor un radio de transición que no deberá ser menor al **6%** del diámetro mayor ó **3** veces el espesor. Tienen las mismas restricciones que la tapa cónica a excepción de que en **México** no se pueden fabricar con un diámetro mayor de **6** metros.

1.4.4. SOLDADURA EN RECIPIENTES A PRESIÓN

El procedimiento más utilizado actualmente en la fabricación de recipientes a presión es el de soldadura, el cual eliminó el sistema de remachado que se usó hasta hace algunos años.

Todas las soldaduras serán aplicadas mediante el proceso de arco eléctrico sumergido, el cual puede ser manual o automático, En cualquiera de los dos casos, deberá tener

penetración completa y se deberá eliminar la escoria dejada por un cordón de soldadura, antes de aplicar el siguiente.

Con el fin de verificar si una soldadura ha sido bien aplicada se utilizan varias formas de inspección, entre ellas está el de radiografiado, la prueba de líquidos penetrantes y algunas veces se utiliza el ultrasonido.

La prueba más comúnmente utilizada es el radiografiado, éste puede ser total o por puntos. Cuando practicamos el radiografiado por puntos en recipientes a presión, debemos tomar por lo menos, una radiografía por cada 15 metros de soldadura y la longitud de cada radiografía será de 15 centímetros como mínimo.

Antes de aplicar cualquier soldadura, en recipientes a presión, debemos preparar un Procedimiento de Soldadura para cada caso en particular, el cual nos indica la preparación, diámetro del electrodo, etc., para cada tipo y espesor de material. Debemos también hacer pruebas a los soldadores para asegurarnos que la soldadura será aplicada por personal debidamente calificado. Estas pruebas y procedimientos deberán apearse estrictamente a las recomendaciones hechas por el Código A.S.M.E.

El material de aporte, de la soldadura, deberá ser compatible con el material base a soldar. Los electrodos más comúnmente utilizados para soldar recipientes a presión de acero al carbón, son el 6010 y el 7018.

Cuando aplicamos soldadura en recipientes a presión de acero inoxidable, es necesario utilizar gas inerte y se recomienda pasivar las soldaduras con una solución a base de ácido nítrico y ácido clorhídrico.

Debemos tratar de evitar los cruces de dos o más cordones de soldadura. La distancia mínima entre dos cordones paralelos será de 5 veces el espesor de la placa, sin embargo, cuando sea inevitable el cruce de dos cordones, el Código A.S.M.E., Sección VIII División 1, nos recomienda radiografiar una distancia mínima de 102 milímetros a cada lado de la intersección.

1.4.5. BOQUILLAS EN RECIPIENTES A PRESIÓN

Todos los recipientes a presión deberán estar provistos de boquillas y conexiones de entrada y salida del producto, válvula de seguridad, venteo, etc. A continuación se enlistan algunas de las boquillas que se deben instalar en los recipientes a presión:

A.- Entrada (s) de producto.

B.- Salida (s) de producto.

C.- Drene.

D.- Venteo.

E.- Entrada (s) de hombre.

F.- Conexión para válvula de seguridad.

G.- Conexión para manómetro.

H.- Conexión para termómetro (termo pozo).

I.- Conexiones para indicadores de nivel.

J.- Conexiones para control de nivel, etc.

Para instalar una boquilla, en un recipiente a presión, es necesario hacer un agujero en el cuerpo o tapa en que se vaya a instalar. Al efectuar este agujero estamos “**quitando área**” y las líneas de esfuerzos que pasaban por el área que quitamos pasarán tangentes al agujero practicado.

Para evitar fallas en la periferia de donde practicamos el agujero, es necesario reponer el material que quitamos.

1.4.5.1. ESPESORES DE LOS CUELLOS DE LAS BOQUILLAS.

Los espesores de los cuellos de las boquillas (cédulas) deberán ser determinados en base a:

a).- Presión interna.

b).- Tolerancia por corrosión.

c).- Fuerzas y momentos debidos a dilataciones térmicas en tuberías, fuerzas transmitidas por otros equipos y acciones debidas al peso propio de las tuberías.

a).- Presión interna:

Generalmente el espesor del cuello de una boquilla calculado para soportar presión interna, resulta muy pequeño debido al diámetro tan reducido que ellas tienen en comparación con el diámetro del recipiente.

b).- Tolerancia por corrosión:

La corrosión es uno de los factores decisivos para seleccionar las cédulas de los cuellos de las boquillas, ya que los espesores de los cuellos de tubos de diámetro pequeño son muy reducidos y únicamente la corrosión puede acabar con ellos.

c).- Es muy importante, al diseñar recipientes a presión, analizar los arreglos de tuberías para hacer recomendaciones a los responsables de este departamento respecto a que las tuberías no deberán transmitir grandes fuerzas y momentos a nuestros recipientes.

Cuando se trabaja con líneas de tuberías relativamente grandes en diámetro y que éstas manejan fluidos a altas temperaturas, debemos recomendar al departamento de tuberías hacer un estudio de análisis de esfuerzos en las líneas críticas a fin de minimizar las cargas y los momentos en las boquillas de los recipientes. Este análisis de esfuerzos incluye la selección y localización adecuada de soportes para las tuberías.

1.4.5.2 SELECCIÓN DE BRIDAS PARA BOQUILLAS

De acuerdo a la forma de unir las bridas a los cuellos de las boquillas, existen los siguientes tipos de bridas:

1.- Brida de cuello soldable. (Welding Neck).

2. –Brida deslizable (Slip-On).
3. -Brida de traslape (lap-Joint).
4. –Bridas roscadas (Threaded).
5. -Bridas de enchufe soldable (Socket Welding).
- 6.- Bridas de orificio.
- 7.- Bridas ciegas (Blind).
- 8.- Bridas especiales.

1.4.6. MATERIALES EN RECIPIENTES A PRESIÓN

En la etapa de diseño de recipientes a presión, la selección de los materiales de construcción es de relevante importancia, para lo cual, necesitamos definir una secuencia lógica en la selección de éstos. Cabe hacer la aclaración que éste es un tema muy amplio y complejo, por lo cual, será difícil llegar a dar recetas para la selección adecuada de los materiales a usar, en recipientes a presión.

El **Código A.S.M.E.** indica los materiales más utilizados así como la forma de suministro, la cual va implícita en su especificación. Los materiales utilizados comúnmente son: aceros al carbono, aceros de baja aleación, Aceros Inoxidable y en menor medida otros materiales como Aluminio, Plásticos reforzados, etc., la elección del material a utilizar se realiza en base a tres factores fundamentales:

- Temperatura de Diseño,
- Presión de Diseño y
- Características corrosivas del fluido contenido en el recipiente.

A continuación se dan algunos ejemplos de materiales, su especificación y forma de suministro.

1.4.6.1. PROPIEDADES QUE DEBEN TENER Y REQUISITOS QUE DEBEN LLENAR LOS MATERIALES PARA SATISFACER LAS CONDICIONES DE SERVICIO.

a) PROPIEDADES MECÁNICAS.

Al considerar las propiedades mecánicas del material, es deseable que tenga buena resistencia a la tensión, alto punto de cedencia, por ciento de alargamiento alto y mínima reducción de área, con estas propiedades principalmente, se establecen los esfuerzos de diseño para el material en cuestión.

b) PROPIEDADES FÍSICAS.

En este tipo de propiedades, se buscará que el material deseado tenga bajo coeficiente de dilatación térmica.

c) PROPIEDADES QUÍMICAS.

La principal propiedad química que debemos considerar en el material que utilizaremos en la fabricación de recipientes a presión, es su resistencia a la corrosión. Este factor es de

muchísima importancia, ya que un material mal seleccionado nos causará múltiples problemas, las consecuencias que se derivan de ello son:

I.- Reposición del equipo corroído.

Un material que no sea resistente al ataque corrosivo, puede corroerse en poco tiempo de servicio.

II.- Sobre diseño en las dimensiones.

Para materiales poco resistentes a la corrosión, es necesario dejar un excedente en los espesores, dejando margen para la corrosión, esto trae como consecuencia que los equipos resulten más pesados, encarecen el diseño y además de no ser siempre la mejor solución.

III.- Mantenimiento preventivo.

Para proteger a los equipos del medio ambiente corrosivo es necesario usar pinturas protectoras.

IV.- Paros debidos a la corrosión de los equipos.

Un recipiente a presión que ha sido atacado por la corrosión, necesariamente debe ser retirado de operación, lo cual implica pérdidas en la producción.

V.- Contaminación o pérdida del producto.

Cuando en los componentes de los recipientes a presión se han llegado a producir perforaciones en las paredes metálicas, los productos de la corrosión contaminan el producto, lo cual en algunos casos es costosísimo.

VI.- Daños a equipos adyacentes.

La destrucción de un recipiente a presión por corrosión, puede dañar los equipos con los que esté colaborando en el proceso.

VII.- Consecuencias de tipo social.

La falla repentina de un recipiente a presión corroído, puede ocasionar desgracias personales, además de que los productos de la corrosión, pueden ser nocivos para la salud.

d) SOLDABILIDAD.

Los materiales usados para fabricar recipientes a presión, deben tener buenas propiedades de soldabilidad, dado que la mayoría de sus componentes son de construcción soldada. Para el caso en que se tengan que soldar materiales diferentes entre sí, éstos deberán ser compatibles en lo que a soldabilidad se refiere. Un material, cuantos más elementos de aleación contenga, mayores precauciones deberán tomarse durante los procedimientos de soldadura, de tal manera que se conserven las características que proporcionan los elementos de aleación”⁹.

⁹ASME., Boiler and Pressure Vessel Code VIII, Division I,II, 1998.,Pp. 65-87-91.

1.4.7. DEFINICIÓN DE CONCEPTOS

1.4.7.1. RECIPIENTE A PRESIÓN

"Se considera como un recipiente a presión cualquier vasija cerrada que sea capaz de almacenar un fluido a presión manométrica, ya sea presión interna o vacío, independientemente de su forma y dimensiones. Los recipientes cilíndricos que nos referimos en esta parte, son calculados como cilindros de pared delgada.

1.4.7.2. PRESIÓN DE OPERACIÓN (P_o)

Es identificada como la presión de trabajo y es la presión manométrica a la cual estará sometido un equipo en condiciones de operación normal.

1.4.7.3. PRESIÓN DE DISEÑO O MÁXIMA PRESIÓN PERMITIDA DE OPERACIÓN (P)

Es la presión máxima a la que se puede someter un recipiente, en condiciones de operación.

Es el valor que debe utilizarse en las ecuaciones para el cálculo de las partes constitutivas de los recipientes sometidos a presión, dicho valor será el siguiente:

$$\text{Si } P_o > 300 \text{ lb/pulg}^2. \quad \text{Si } P_o \leq 300 \text{ lb/pulg}^2.$$

$$P = 1.1 \cdot P_o. \quad P = P_o + 30 \text{ lb/pulg}^2.$$

Donde P es la presión de diseño, y P_o es la presión de operación.

Al determinar la presión de diseño (**P**), debe tomarse en consideración la presión hidrostática debida a la columna del fluido que estemos manejando, si éste es líquido sobre todo en recipientes cilíndricos verticales.

El término “Máxima presión de trabajo permisible” es usado frecuentemente. Cuando se encuentra en las siguientes condiciones:

- a) El recipiente no está corroído (nuevo).
- b) La temperatura no afecta a la resistencia a la tensión del material (temperatura ambiente) (frío).
- c) Tampoco se consideran los efectos producidos por la acción del viento, presión hidrostática, etc.

1.4.7.4. PRESIÓN DE PRUEBA HIDROSTATICA (P_p**)**

El recipiente terminado una vez lleno con agua, debe someterse a una presión de prueba igual a una y media veces la presión máxima de trabajo permitida la cual debe marcarse en el recipiente o lo que es lo mismo a una y media veces la presión de diseño, según acuerde el usuario y el fabricante.

Esta debe efectuarse en presencia del fabricante después de que todos los procesos de construcción y pruebas o exámenes estén concluidos y aceptados, con la finalidad de asegurar la integridad estructural del recipiente y verificar que no existan fugas.

1.4.7.5. PRUEBA NEUMÁTICA.

El recipiente terminado puede probarse con aire comprimido una vez de aplicarle la prueba hidrostática, cuando no puede llenarse con agua bajo condiciones de seguridad o cuando no sean tolerables las trazas que pueden quedar del líquido de prueba.

Esta prueba debe hacerse a una y un cuarto de veces la presión máxima de operación permitida.

1.4.7.6. TEMPERATURA DE OPERACIÓN (T_o)

Es el valor normal de temperatura en las condiciones de operación del proceso, a la cual el cambiador de calor será expuesto.

1.4.7.7. TEMPERATURA DE DISEÑO (T_d)

Se define como la temperatura que será utilizada en el diseño del cambiador de calor, esta temperatura se selecciona como sigue:

Para fluidos que operan con una temperatura superior a 32 F (0 C), la temperatura de diseño será la que resulte mayor de las siguientes:

Para fluidos que operan a una temperatura de 32 F (0 C) o inferior, se deberá especificar simultáneamente la temperatura mínima y la máxima anticipada, siendo esta última no menor a 150 F (65.5 C) para el lado de la coraza con el objeto de considerar la circulación de aire caliente durante la operación de secado, posterior a la prueba hidrostática.

1.4.7.8. ESFUERZO DE DISEÑO A LA TENSIÓN (S)

Es el valor máximo al que podemos someter un material, que forma parte de un recipiente a presión, en condiciones normales de operación. Su valor es aproximadamente el **25%** del esfuerzo último a la tensión del material en cuestión.

El cálculo de estos esfuerzos nos permitirá ir a las tablas de los fabricantes de aceros, para seleccionar el más adecuado.

1.4.7.8.1. ESFUERZO LONGITUDINAL (S_1) Y ESFUERZO CIRCUNFERENCIAL (S_2)

El esfuerzo de la costura circunferencial rige solamente cuando la eficiencia de la junta circunferencial es menor que la mitad que la eficiencia de la junta longitudinal, o cuando además de la presión interna hay cargas adicionales (carga de viento, reacción de silletas) que producen flexión o tensión longitudinal.

ESFUERZO EN EL ARO (aro rectangular)

PERPENDICULAR AL EJE DEL RECIPIENTE

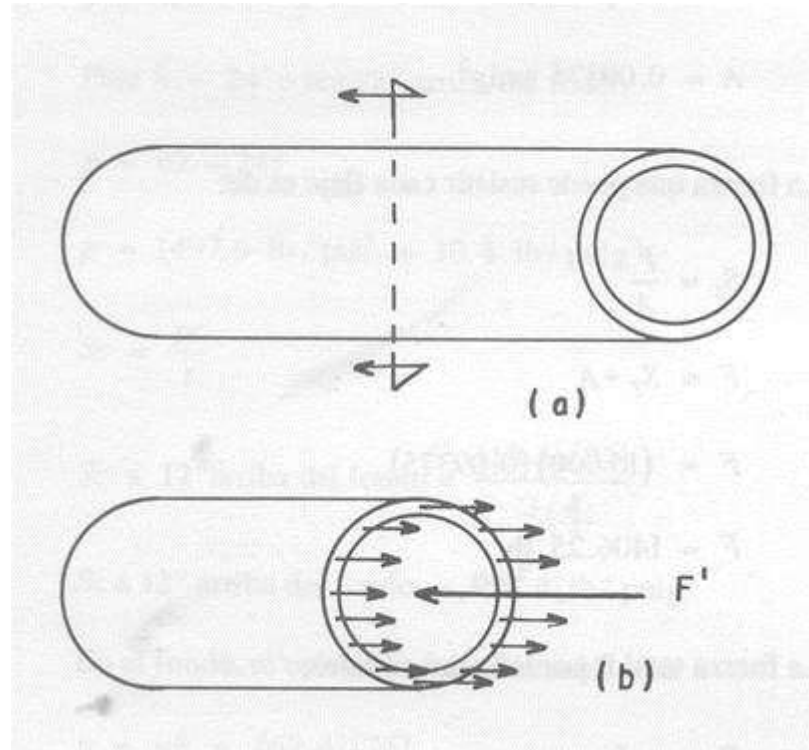


Fig. 1.4.7.8.1-1 p = presión del fluido, perpendicular a las paredes del recipiente

1.4.7.9. MARGEN O SOBRE ESPESOR DE CORROSIÓN

Las normas no pre-escriben la magnitud del margen de corrosión excepto para recipientes con espesor mínimo requerido menor de 0,25 pulg que de utilizarse para servicio de vapor de agua, agua o aire comprimido para los cuales indica un margen de corrosión no menor de la sexta parte del espesor de placa calculado. No es necesario que la suma del espesor calculado más el margen de corrosión exceda de $\frac{1}{4}$ de pulg. (Norma UCS-25).

Para otros recipientes en que sea predecible el desgaste por corrosión, la vida esperada del recipiente será la que determine el margen y si el efecto de la corrosión es indeterminado, el margen lo definirá el diseñador. Un desgaste de corrosión de 5 milésimas de pulgada por año (1/16 milésimas de pulgada en 12 años) generalmente es satisfactorio para recipientes y tuberías.

La vida deseada de un recipiente es una cuestión económica. Los recipientes principales o mayores se diseñan generalmente para una vida larga de servicio (15 a 20 años), mientras que los secundarios o menores para periodos más cortos (8 a 10 años).

No necesita aplicarse el mismo margen por corrosión a todas las partes del recipiente si se esperan diferentes grados de ataque para distintas partes (Norma UG-25).

1.4.7.10. EFICIENCIA DE LAS SOLDADURAS (E)

Se define como el grado de confiabilidad de las juntas soldadas en relación al grado de inspección y se establece como un porcentaje según se define a continuación para el caso de soldadura a tope con penetración completa”¹⁰.

**TABLA 1.4.7.10-1
EFICIENCIA DE LA SOLDADURA**

	RADIOGRAFIADA	RADIOGRAFIADA	SIN
	AL 100%	POR PUNTOS	RADIOGRAFIAR
VALORES DE “E”	1.00	0.85	0.7

¹⁰MEGYESY., E., Manual de Recipientes a Presión., México., D.F. Pp.174-175-195.

1.5. DISEÑO DEL SISTEMA DE ESTERILIZACIÓN

“El diseño de un cuerpo y de los cabezales por los aportes UG – 16 a UG – 35 del Código ASME y específicamente por los apartes UG-27 y UG-32. De acuerdo al aparte UG-16 del Código el espesor de pared mínimo en cuerpo y cabezales $d/16$ pulgadas de un recipiente sometido a presión interna y/o externa son englobados en general”¹¹.

1.5.1. ECUACIONES USADAS PARA EL DISEÑO DEL EQUIPO DE ESTERILIZACIÓN.

Las ecuaciones que a continuación se muestran fueron escogidas estrictamente de acuerdo a las especificaciones de diseño, y según fueron apareciendo las necesidades de cálculo. Todas estas están dentro del Código ASME – sección VIII – división I y II que es ideal para recipientes a presión.

1.5.1.1. FUERZA DEBIDO A LA PRESIÓN DEL FLUIDO DENTRO DEL RECIPIENTE

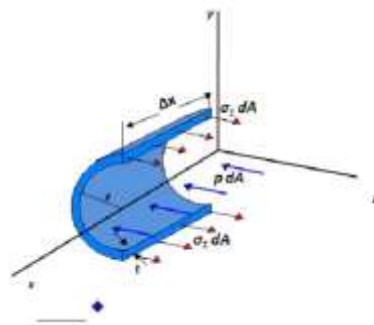


Fig. 1.5.1.1-1 Fuerza debida a la presión

$$F = \frac{P}{CSE}$$

Ec. 1.5.1.1-1

Donde:

P= Presión de diseño ($\frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2}$) o Pa.

C= Corrosión máxima permitida (pulg) o m.

S= Valor del esfuerzo del material ($\frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2}$) o Pa.

E= Eficiencia de soldadura

1.5.1.2. LONGITUD DEL RECIPIENTE

Al determinar el factor F y conociendo el Volumen se hace una relación entre las dos mediante una gráfica (anexo) lo que permite determinar la longitud del sistema.

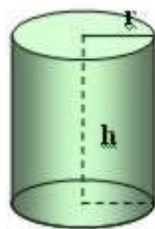


Fig. 1.5.1.2-1. Longitud de un recipiente cilíndrico

$$L = \frac{4V}{\pi D^2}$$

Ec. 1.5.1.2-1

Donde:

L = Longitud del recipiente (pies)

V = Volumen del recipiente (pies³)

D = Diámetro optimo (pies)

$\pi = 3.1416$

1.5.1.3. ESPESOR DEL CASCO CILINDRICO (t)

Establecer el espesor del casco como también de la tapa en el que se construirá el sistema es muy necesario, tomando en cuenta el factor corrosión que ataca a todo tipo de material en tiempos determinados, para disminuir el riesgo de ataque se sobre diseña especialmente para materiales poco resistentes al ataque corrosivo, aunque es un factor de seguridad importante.

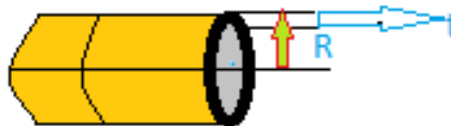


Fig. 1.5.1.3-1. Espesor del casco cilíndrico

1.5.1.3.1. SIN MARGEN DE CORROSIÓN

$$t = \frac{P \cdot R}{S \cdot E - 0.6P}$$

Ec.1.5.1.3.1-1

1.5.1.3.2. CON MARGEN DE CORROSIÓN

$$t_c = \frac{P \cdot R}{S \cdot E - 0.6P} + C$$

Ec.1.5.1.3.2-2

Donde:

D = Diámetro (m)

R = radio (m)

C = Margen de corrosión (m)

P= Presión de diseño (Pa)

S= Valor del esfuerzo del material (Pa)

E= Eficiencia de soldadura

1.5.1.4. ESPESOR DE LA CABEZATORIESFERICA.

Las tapas toriesféricas son las más aceptadas en la industria, debido a su bajo costo y a que soportan grandes presiones manométricas, su característica principal es que el radio del abombado es aproximadamente igual al diámetro se pueden fabricar en diámetros de 0.3 hasta 6m. De manera que se decidió diseñar esta tapa la cual cumple con los parámetros establecidos (ASME).

A continuación se muestra la Ecuación correspondiente.

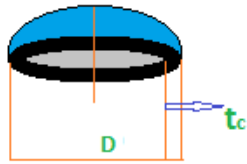


Fig. 1.5.1.4-1. Espesor de la cabeza toriesférica

1.5.1.4.1. SIN MARGEN DE CORROSIÓN

$$t = \frac{P \cdot D}{2 \cdot S \cdot E - 0.2P}$$

$$t = \frac{PD}{2SE - 0.2P} E_c.$$

1.5.1.4.1-1

1.5.1.4.2. CON MARGEN DE CORROSIÓN

$$tc = \frac{P*D}{2*S*E-0.2P} + C$$

Ec. 1.5.1.4.2-1

Donde:

D = Diámetro (m)

P= Presión de diseño (Pa)

C= Corrosión máxima permitida (m)

S= Valor del esfuerzo del material (Pa)

E= Eficiencia de soldadura

1.5.1.5. PRESIÓN DE TRABAJO MAXIMA PERMITIDA (Pm)

Es la presión de trabajo máxima permitida de la cabeza o del casco y no de los elementos pequeños como bridas o aberturas no es igual que la máxima presión permitida de operación debido a que esta presión, está sujeta al elemento más débil del recipiente correspondiente al esfuerzo máximo admisible

Se calcula con la siguiente ecuación:

$$Pm = \frac{S*E*t}{R+(0.6*t)}$$

Ec. 1.5.1.5-1

Donde:

R = Radio (m)

S= Valor del esfuerzo del material (Pa)

E= Eficiencia de soldadura

t = Espesor del casco (m)

1.5.1.6. CÁLCULO DEL CALOR ESPECÍFICO DEL SUSTRATO

El calor específico es la energía necesaria para elevar 1 °C la temperatura de un gramo de materia.

El calor específico es un parámetro que depende del material y relaciona el calor que se proporciona a una masa determinada de una sustancia con el incremento de temperatura:

$$Q = m \int_{T_i}^{T_f} c dT$$

Las unidades más habituales de calor específico son **J / (kg · K)** y **cal / (g · °C)**.

El calor específico de un material depende de su temperatura; no obstante, en muchos procesos termodinámicos su variación es tan pequeña que puede considerarse que el calor específico es constante. Asimismo, también se diferencia del proceso que se lleve a cabo, distinguiéndose especialmente el "calor específico a presión constante" (en un proceso isobárico) y "calor específico a volumen constante (en un proceso isocórico).

$$Q = m \cdot c \cdot \Delta T \quad \text{Ec. 1.5.1.6-1}$$

$$M_1 \cdot C_{p1} \cdot \Delta T_1 = m_2 \cdot C_{p2} \cdot \Delta T_2 \quad \text{Ec. 1.5.1.6-2}$$

Donde:

Q = es el calor aportado al sistema.

m = masa del sustrato (Kg)

Cp= Calor específico del sustrato (J/Kg*°K)

ΔT = Diferencia de temperatura que experimenta el sistema (°K)

CAPITULO II

PARTE

EXPERIMENTAL

2. PARTE EXPERIMENTAL

Para el diseño y construcción del sistema de esterilización húmeda para sustratos sólidos, se consideró un equipo para la simulación con características similares tanto físicas como de proceso, que ayudó a determinar experimentalmente los parámetros de diseño, el mismo que se encuentra ubicado en el Laboratorio de Sanidad Vegetal – de Fitopatología de la Facultad de Recursos Naturales de la ESPOCH, cuyas condiciones meteorológicas y físicas son las siguientes:

Temperatura promedio: 15C

Humedad relativa promedio: 55.4 %

Altura del lugar: 2750 msnm

Presión atmosférica del lugar: 0.738 atm

2.1. MUESTREO

Tomando en cuenta que el Laboratorio en mención trabaja con sustratos como, cascarilla de arroz, arrocillo y melaza en proporción 3:2:1 respectivamente, los mismos que son previamente humedecidos por el lapso de 48 horas, siendo la mezcla de estos tres elementos nuestra muestra de interés, considerando que el Laboratorio realiza 3 días a la semana y tres lotes de producción (paradas) por cada día, se tomó varias de estas muestras de algunos lotes en diferentes días así:

- I. Muestras de sustrato después de la esterilización listas para crecimiento de hongos.
- II. Muestras de sustrato contaminado después de haber sido inoculado.
- III. Muestras de sustrato con alto grado de contaminación después de haber sido inoculado.

En el caso II y III se realizó la toma significativa de colonias (según tipo) y se procedió a observar al microscopio después se sometió a esterilización, posterior a ello se realizó pruebas de crecimiento microbiológicas en un medio de cultivo (PDA), en el caso I se lo cultivo directamente en cajas Petri por 48 horas, para poder comprobar la efectividad de la esterilización además se consideró las condiciones de operación del sistema de simulación de acuerdo a las condiciones de contaminación, las que permitieron considerar aspectos fundamentales para finalmente validar mediante el Factor F (Anexo IX) las pruebas funcionales.

Estas pruebas se realizaron tanto en el equipo simulador como en el construido.

TABLA 2.1-1
PLAN DE MUESTREO DE SUSTRATOS- EQUIPO SIMULADOR “I”

# TOMA	DIA	# MUESTRA	TIPO DE MUESTRA
1	08/03/2011	3	La muestra tomada fue la mezcla de sustratos al salir de la esterilización.
2	10/03/2011	4	
3	22/03/2011	2	
4	24/03/2011	3	
5	05/03/2011	2	

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores-Laboratorio Fitopatología - ESPOCH

TABLA 2.1-2
PLAN DE MUESTREO DE SUSTRATOS - EQUIPO SIMULADOR “II”

# TOMA	DIA	# MUESTRA	TIPO DE MUESTRA
1	10/05/2011	3	La muestra tomada fue sustrato contaminado después de haber sido inoculada con microorganismos antagonistas.
2	17/05/2011	4	
3	22/05/2011	2	
4	24/05/2011	3	
5	31/05/2011	2	

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores - Laboratorio Fitopatología - ESPOCH

TABLA 2.1-3
PLAN DE MUESTREO DE SUSTRATOS - EQUIPO SIMULADOR “III”

# TOMA	DIA	# MUESTRA	TIPO DE MUESTRA
1	02/06/2011	3	La muestra tomada fue sustrato contaminado con alto grado de contaminación después de haber sido inoculada con microorganismos antagonistas.
2	09/06/2011	4	
3	14/06/2011	2	
4	05/07/2011	3	
5	19/07/2011	2	

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores-Laboratorio Fitopatología - ESPOCH

2.2. METODOS

2.2.1. EXPERIMENTAL

Se empleó el método experimental ya que fue el más idóneo para este caso, de manera que se obtuvo datos reales en las pruebas realizadas a nivel de laboratorio para idealizarlos en nuestro diseño, conociendo que la cantidad de botellas con sustrato que carga el esterilizador es de 42 - 46 botellas distribuidas en cuatro filas las mismas que dan alrededor de 6 botellas de sustrato por Kg dando una masa de 8 Kg más la masa de las botellas que es alrededor 0.300 Kg c/u o 13.5 Kg, dando un total de 21.5 Kg que carga el esterilizador en cada parada, con estos datos se simuló una vuelta más alrededor de cada fila dando 11 botellas por fila aumentando la cantidad de 44 - 48 botellas, más las botellas iniciales. Dando un total de 86 -92 botellas, haciendo el cálculo respectivo nos salió una masa de sustrato igual a 15 Kg más la masa de botellas igual a 27 Kg, obteniendo un total de 42 Kg por cada parada (sustrato + botella), de la misma forma se calculó el volumen del sistema simulador y se relacionó con el equipo a diseñar y nos dio un volumen de 135L o 0.135m^3 .

2.3. TECNICAS

2.3.1. SIMULACIÓN

Es la técnica que se acopla a nuestro proyecto, gracias a la presencia de un equipo similar en el que pudimos simular las condiciones de operación tales como presión, temperatura, tiempos de acuerdo al grado de contaminación, así también nos ayudó a calcular la masa de sustrato y frascos mediante las pruebas realizadas a nivel de laboratorio como fue poner

una vuelta más de sustrato alrededor de cada fila de la carga, además nos permitió calcular, volumen diámetro y longitud óptimas del equipo a construir mediante el uso del Factor F (fuerza debido a la presión del fluido dentro del recipiente) (Ver Anexo IX), que es el ideal para recipientes a presión, estos parámetros serán indispensables en la idealización del sistema a construir.

2.3.2. OBSERVACIÓN

Nos ayudó a determinar las características físicas y microbiológicas de las muestras, las mismas que después de haber sido tomadas (muestras II y III) se procedió a observar en el microscopio según sus características físicas se pudo determinar mediante comparación bibliográfica, el tipo de microorganismo que ha poblado las muestras, analizando que el tipo de microorganismos existentes tienen un rango de resistencia al calor por debajo del que se utilizará en el simulador entonces, sometimos a esterilización nuevamente, en tiempos distintos (30 y 45 minutos respectivamente), posteriormente tomamos partes significativas de las muestras y pusimos a crecer en cajas Petri en medio nutritivo PDA (potato dextrose agar) previamente preparadas por un tiempo de 48 horas, para después observar los resultados. En la muestra I se puso a crecer directamente en cajas Petri.

2.4. DATOS EXPERIMENTALES – SIMULACIÓN

TABLA 2.4.1.
CONDICIÓN DE OPERACIÓN= ESTERILIZACIÓN IDEAL

# TOMAS	T (C)	P(atm)	t(min)
1	121	1	30
2	121	1	30
3	121	1	30
4	121	1	30
5	121	1	30

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores

TABLA 2.4-2
CONDICIÓN DE OPERACIÓN = CARGA DEL PRODUCTO
CONTAMINACIÓN DEL PRODUCTO

# TOMAS	T (C)	P(atm)	t(min)
1	121	1	45
2	121	1	45
3	121	1	45
4	121	1	45
5	121	1	45

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores

TABLA 2.4-3
CONDICIÓN DE OPERACIÓN = CARGA DEL PRODUCTO
CON ALTA CONTAMINACIÓN

# TOMAS	T (C)	P(atm)	t(min)
1	121	1	60
2	121	1	60
3	121	1	60
4	121	1	60
5	121	1	60

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores

TABLA 2.4-4
MATRIZ DE DECISIÓN PARA IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES DE
PROCESO PARA EL DIMENSIONAMIENTO DEL EQUIPO

CONDICIÓN	T (°C)	P(atm)	t(min)
1	121	1	30
2	121	1	45
3	121	1	60

Fuente: María A. Flores María E. Ronquillo

Donde:

T: temperatura en °C

P: presión en atm.

t: tiempo en min

Con la obtención de estos datos hemos tomado en cuenta las condiciones óptimas de acuerdo al grado de contaminación de los sustratos.

TABLA 2.4-5
DATOS EXPERIMENTALES DURANTE LAS PRUEBAS DE VALIDACIÓN DEL
EQUIPO

V (L)	m(Kg)	# (frascos)	V _{H2O} (L)
135	42	92	15

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores

Donde:

V: volumen total del equipo en L.

m: carga total a esterilizar en Kg.

frascos: 92 unidades

V_{H_2O} : volumen de agua en L.

2.5. DATOS ADICIONALES

TABLA 2.5-1
VALORES DEL CALOR ESPECÍFICO

Cp.	Kcal/kgK
Agua	1.00738
Sustrato	0.75
Propano	11.40
Butano	11.57

Fuente: [es.wikipedia.org/wiki/calores especificos propano, butano, agua-](https://es.wikipedia.org/wiki/calores_especificos_propano,_butano,_agua)
María A. Flores María E. Ronquillo

CAPITULO III

DISEÑO Y

CONSTRUCCION

DEL EQUIPO

3. DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DEL EQUIPO

DATOS DE LA AUTOCLAVE A CONSTRUIR

$$\text{Presión de operación (Po)} = 14.7 \left(\frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2} \right) = 101352.96 \text{ Pa}$$

$$\text{Presión de diseño (P)} = 44.7 \left(\frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2} \right) = 308195.73 \text{ Pa}$$

$$\text{Temperatura de trabajo (T)} = 394 \text{ }^\circ\text{K o } 121^\circ\text{C}$$

$$\text{Temperatura de diseño (Td)} = 394 \text{ }^\circ\text{K o } 121\text{C}$$

$$\text{Densidad del fluido en estado líquido (agua) } (\delta) = 1\text{g/cm}^3$$

$$\text{Volumen del recipiente (V)} = 135.422\text{L o } 0.135422 \text{ m}^3$$

$$\text{Margen de corrosión} = 1/16 \text{ pulg o } 1.5875\text{mm}/12 \text{ años} = 0.0015875\text{m}/12 \text{ años}$$

Tipo de material a utilizar según código ASME – Sección VIII y en base al tipo de fluido se determina el siguiente material Acero SA – 283 Gr C.

$$\text{Esfuerzo último del material (S)} = 12700 \left(\frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2} \right) = 87563440.4 \text{ Pa}$$

$$\text{Calor específico del sustrato (Cp.)} = 0.75 \frac{\text{kcal}}{\text{kg}^* \text{k}} \text{ o } 3140.1 \text{ J/Kg}^* \text{ }^\circ\text{K}$$

3.1. DISEÑO DE INGENIERIA DEL EQUIPO

3.1.1. CÁLCULO DE CALOR REQUERIDO

3.1.1.1 BALANCE TERMODINÁMICO

Mediante esta igualación se pudo determinar el Cp del sustrato:

$$m_1 * Cp_1 * \Delta T_1 = m_2 * Cp_2 * \Delta T_2 \quad \text{Ec. 1.5.1.6-2}$$

$$Cp_1 = 0.75 \frac{\text{kcal}}{\text{kg} \cdot \text{k}} = 3140.1 \text{ J/Kg} \cdot \text{°K}$$

Haciendo uso de:

$$Q = m \cdot c \cdot \Delta T \quad \text{Ec. 1.5.1.6-1}$$

$$Q = 15 \text{Kg} * 0.75 \frac{\text{kcal}}{\text{kg} \cdot \text{k}} (394 - 293) \text{°K}$$

$$Q = 1136.25 \text{ Kcal} = 4757251.5 \text{ J}$$

El calor necesario para esterilizar el producto por cada carga es de $Q = 1136.25 \text{ Kcal} = 4757251.5 \text{ J}$.

3.1.2. CÁLCULO DEL AGUA NECESARIA PARA EL PROCESO DE ESTERILIZACION.

Haciendo uso de:

$$Q = m \cdot c \cdot \Delta T \quad \text{Ec. 1.5.1.6-1}$$

$$m = 1136.25 \text{ Kcal} / \left(0.75 \frac{\text{kcal}}{\text{kg} \cdot \text{K}} \cdot 101^\circ \text{K}\right)$$

$$m = 15 \text{ Kg}$$

$$(\delta) = m/V$$

$$V = 15 \text{ Kg} / \text{Kg/L}$$

$$V = 15 \text{ L} = 0.015 \text{m}^3$$

El volumen de agua que necesita el sistema de esterilización para que se transforme en vapor es 15L o 0.015m³.

3.1.3. CÁLCULO DE MASA DEL GAS NECESARIO PARA EL ESTERILIZADOR

Haciendo uso de:

$$Q = m \cdot c \cdot \Delta T \quad \text{Ec. 1.5.1.6-1}$$

$$m = 1136.25 \text{ Kcal} / \left(11.48 \frac{\text{kcal}}{\text{kg} \cdot \text{K}} \cdot 101^\circ \text{K}\right)$$

$$m = 0.98 \text{Kg}$$

La masa de gas necesaria por cada lote de producción es de 0.98 Kg.

3.1.4. CÁLCULO DE LA FUERZA DEBIDO A LA PRESIÓN DEL FLUIDO DENTRO DEL RECIPIENTE (F)

Haciendo uso de:

$$F = \frac{P}{CSE} \quad \text{Ec. 1.5.1.1-1}$$

$$F = \frac{44.7\text{psi}}{0.0625\text{pulg} * 12.7\text{e3psi} * 1}$$

$$F = 0.056$$

S= Valor del esfuerzo del material (psi)

El esfuerzo lo encontramos en la tabla que se muestra abajo dada la temperatura de diseño que no excede de `F:

Ver (Anexo X)

Una vez determinado el valor de F se recurre a la tabla adjunta para el diseño óptimo del recipiente, en función del volumen del recipiente y el valor de F, se determina el diámetro óptimo del recipiente.

Se recorre de manera horizontal el valor del volumen del recipiente hasta encontrar la línea que presenta el valor de F una vez realizado esto, en la intersección se recorre de manera vertical para determinar el diámetro óptimo del recipiente:

Donde $F = 1.8 \text{ ft} = 21.6 \text{ pulg.} = 54,9 \text{ cm} \approx 55 \text{ cm} = 0.55 \text{ m} = D$

Se determina el valor del diámetro conforme con el valor encontrado que es ($F= 0.056$) y un volumen del recipiente de 0.135422 m^3

Ver (Anexo IX)

Una vez calculado el diámetro óptimo se procede a calcular el valor de la longitud del recipiente.

3.1.5. CÁLCULO DE LA LONGITUD DEL RECIPIENTE

Haciendo uso de:

$$L = \frac{4V}{\pi D^2} \quad \text{Ec. 1.5.1.2-1}$$

$$L = \frac{4 * 4.78 \text{ ft}^3}{3.1416 * (1.8 \text{ ft})^2}$$

$$L = 1.88 \text{ ft} = 22,54 \text{ pulg} = 57.34 \text{ cm} \approx 0.57 \text{ m.}$$

3.1.6. CÁLCULO DEL ESPESOR DEL CASCO CILÍNDRICO

3.1.6.1 SIN MARGEN DE CORROSIÓN

Haciendo uso de:

$$t = \frac{P * R}{S * E - 0.6P} \quad \text{Ec.1.5.1.3.1-1}$$

$$t = \frac{\frac{44.7\text{lb}}{\text{pulg}^2} * 21.65 \text{ pulg}}{\left(12700 \frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2} * 1\right) - 0.6 * \frac{44.7\text{lb}}{\text{pulg}^2}}$$

$$t = 0.076 \text{ pulg} = 1.93\text{mm} \approx 2\text{mm} = 0.002 \text{ m}$$

3.1.6.2 CON MARGEN DE CORROSIÓN

Haciendo uso de:

$$t_c = \frac{P * R}{S * E - 0.6P} + C \text{ Ec. 1.5.1.3.2-2}$$

$$t = \frac{\frac{44.7\text{lb}}{\text{pulg}^2} * 21.65 \text{ pulg}}{\left(12700 \frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2} * 1\right) - 0.6 * \frac{44.7\text{lb}}{\text{pulg}^2}} + 0.0625\text{pulg}$$

$$t = 0.130 \text{ pulg} = 3.3 \text{ mm} \approx 3 \text{ mm} = 0.003\text{m}$$

Placa seleccionada

$$t = 0.130 \text{ pulg} = 3.3 \text{ mm} \approx 3 \text{ mm} = 0.003\text{m}$$

3.1.7. CÁLCULO DEL ESPESOR DE LA CABEZA TORIESFERICA (tc)

3.1.7.1. SIN MARGEN DE CORROSIÓN

Haciendo uso de:

$$t = \frac{P * D}{2 * S * E - 0.2P}$$

$$t = \frac{PD}{2SE - 0.2P} \text{ Ec. 1.5.1.4-1}$$

$$tc = \frac{\frac{44.7\text{lb}}{\text{pulg}^2} * 43.3 \text{ pulg}}{\left(2 * 12700 \frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2} * 1\right) - 0.2 * \frac{44.7\text{lb}}{\text{pulg}^2}}$$

$$tc = 0.076 \text{ pulg.} = 1.93\text{mm} \approx 2\text{mm} = 0.002 \text{ m}$$

3.1.7.2. CON MARGEN DE CORROSIÓN

Haciendo uso de:

$$tc = \frac{P*D}{2*S*E-0.2P} + C \quad \text{Ec. 1.5.1.4-2}$$

$$tc = \frac{\frac{44.7\text{lb}}{\text{pulg}^2} * 43.3 \text{ pulg}}{\left(2 * 12700 \frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2} * 1\right) - 0.2 * \frac{44.7\text{lb}}{\text{pulg}^2}} + 2 * 0.0625\text{pulg}$$

$$tc = 0.130 \text{ pulg.} = 3.3 \text{ mm} \approx 3 \text{ mm} = 0.003 \text{ m}$$

Placa seleccionada

$$t = 0.130 \text{ pulg} = 3.3 \text{ mm} \approx 3 \text{ mm} = 0.003 \text{ m}$$

La presión de operación es a la que va estar sometido normalmente por lo que, la presión de diseño se emplea para diseñar el recipiente, es importante diseñar el recipiente y sus componentes para una presión mayor a la de operación. Este requisito se satisface utilizando la presión de diseño de 44.7 lb/pulg² o 308195.73 Pa, además en ambos casos:

diseño de cuerpo cilíndrico y diseño de tapa se escoge el espesor del material que resulte mayor tomando en cuenta el margen de corrosión.

De esta forma se elige el espesor del material tanto para el cilindro como para la tapa que será $t = t_c = 0.130 \text{ pulg} = 3.3 \text{ mm} \approx 3 \text{ mm} = 0.003 \text{ m}$.

3.1.8. PRESIÓN DE TRABAJO MÁXIMA PERMITIDA (P_m)

Haciendo uso de:

$$P_m = \frac{S * E * t}{R + (0.6 * t)} \quad \text{Ec. 1.5.1.5-1}$$

$$P_m = \frac{12700 \frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2} * 0.130}{10.8 * 0.6 * 0.130}$$

$$P_m = 151.8 \frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2} \text{ o } 1046624.43 \text{ Pa.}$$

La presión de trabajo máxima permitida a la que puede sujetarse el equipo antes de sufrir daños es de $151.8 \frac{\text{lb}}{\text{pulg}^2}$ o 1046624.43 Pa.

Los Diseños del equipo se muestran en (Anexos III, IV, V, VI).

3.2. REQUERIMIENTO PRESUPUESTARIO

3.2.1. RECURSOS DE INVERSIÓN FIJA

TABLA 3.2.1-1
Recursos de inversión fija

MATERIAL	CANTIDAD	P. Unitario	P. Total
Planchas de acero AISI 304 L	2	520	1040
Electrodos de 2mm de acero de 1Kg	1	280	280
Gratas Ref. 80	2	25	50
Gratas 140	6	7	42
Bridas con 8 huecos	6	7	42
Soportes de acero inoxidable	2	120	240
Pernos de ½" para mariposa	8	15	120
Tuercas mariposa de acero inoxidable ½"	8	15	120
Lana de vidrio importada	4	10	80
Niquelina de 1mm	4	25	100
Manómetro	1	20	80
Válvula de seguridad de ½"	1	40	40
Lija de pulir 060	8	6	48
Temporizador	1	15	220
Termómetro	1	150	150
Tablero eléctrico	1	600	600
Quemador 1 vuelta	1	120	120
Empaques par alimentos	2	10	20
Fundición de poliuretano	11	12	132
Varios			107
Mano de obra en construcción y ensamblaje del equipo			400
TOTAL			4032

Fuente: María A. Flores María E. Ronquillo

3.2.2. RECURSOS OPERACIONALES

TABLA 3.2.2-1
Recursos operacionales

Consumo de luz/mes	55
Consumo de agua/mes	7
Mano de obra en operación del equipo/mes	310
TOTAL	372

Fuente: María A. Flores María E. Ronquillo

3.2.3. RECURSOS TOTALES

TABLA 3.2.3-1
Recursos totales

Recursos de inversión fija	4032
Recurso operacional	372
COSTO TOTAL	4404

Fuente: María A. Flores María E. Ronquillo

3.2.4. DESCRIPCION TECNICA DE DISEÑO

TABLA 3.2.4-1
HOJA TECNICA DE DISEÑO

INFORMACION	NUMERACION	DESCRIPCION	INDICADOR	UNIDAD
Requerimiento de servicio		Energía Eléctrica	110	V _{CA}
		Agua	15	L
		G.L.P	1.31	Kg
Tipo de caldero		Operación discontinua		
		Volumen	135	L
		Masa	42	Kg
Accesorios	7	Termómetro	0-600	°C
		Manómetro	3	Bar
	7	Temporizador		Min
		Niquelina	5500 110	Vatios Voltios
	1	Interfaz de potencia (transparente)	110 8	Vatios Pines
	2	Contactar (blanco)	40	Amp. x línea
	3	Fase: rojo y negro		
	4	Neutro: blanco y verde		
	5	Breaker de seguridad (tomate)	60	Amp.
	6	Selector de encendido y apagado		
		Tuercas cilíndricas de seguridad		
	Válvulas	½	Pulg.	

Fuente: María A. Flores María E. Ronquillo- Taller mecánico de construcción.



Fig. 3.2.4-1 Descripción gráfica del panel electrónico con numeración.

3.3. CONSTRUCCION DEL EQUIPO

En la construcción del caldero se ha utilizado 2 planchas de acero inoxidable de 3mm debidamente cortadas y soldadas con soldadora tipo TIC y con electrodos de acero inoxidable, que garantiza una total hermeticidad del recipiente, recubriendo al caldero va un aislante térmico de lana de vidrio de alta resistencia de un espesor de 10 cm cubierta por una camisa externa metálica de acero inoxidable de 1 mm soldada con soldadura tipo TIC y electrodos de acero inoxidable, el caldero se divide en dos cámaras la primera tiene una altura de 8 cm separada por un trípode de acero inoxidable de 3mm que cuenta con una agarradera sumergible del mismo material, la segunda cámara tiene una altura de 57 cm, en

la parte superior se encuentra la tapa metálica de acero inoxidable de 3 mm de geometría toriesférica que se aprieta y cierra herméticamente mediante un empaque fabricado en gel de silicona de alta resistencia térmica sumamente durable, la tapa con el caldero es apretada por 15 tuercas cilíndricas de seguridad. Esta tapa posee tres orificios uno para el manómetro, otro que es una válvula para el escape del aire y vapor graduada automáticamente de 1/2", fabricada en bronce fundido que soporta una presión de 2 a 14 atmosferas, y el tercero una válvula de seguridad de 1/2".

En la parte inferior se encuentra agua de fondo la cual recibe calor por combustión de mecheros de gas exterior o por una resistencia que dará la energía por medio de corriente eléctrica con una intensidad de corriente de 25.8 amperios. En la parte exterior del autoclave cuenta con un cable tomacorriente, además de un sistema electrónico donde está el temporizador y un medidor de temperatura con termocupla tipo "j" manipulable y un selector de encendido y apagado.

3.3.1. TIPOS DE MATERIALES Y CONTROLES PARA EL EQUIPO

TABLA 3.3.1.
TIPOS DE MATERIALES Y CONTROLES PARA EL EQUIPO

MATERIAL	TIPO	ESPECIFICACIONES
Planchas de acero A	AISI 304 L	3mm de espesor
Electrodos	E 308 L16	2mm y 1kg
Gratas	140M	
Tuercas cilíndricas	ASME SA 105	75-86
Soportes de acero inoxidable	ASME SA5 1670	70
Lana de vidrio importada	20-100	Aislamiento térmico preservación de calor
Niquelina	7.78gr/cm ³	Mena secundaria de níquel
Manómetro		Control de presión
Válvula de seguridad	½ pulgada	Liberar fluido cuando la presión interna supera el umbral establecido.
Válvula de escape de vapor	2757D-1-X1-F3	Abre y cierra el paso del fluido
Temporizador		Control de tiempo
Termómetro		Control de temperatura(punto de control)
Tablero eléctrico	Lamina de hierro dulce	Proporcional, integral y derivativo
Quemador 1vuelta	Sistema a gas GPL	Aislamiento de hierro dulce, recubierto de acero inoxidable

Fuente: María A. Flores María E. Ronquillo

3.4. MANEJO Y OPERACION DEL ESTERILIZADOR

Para el correcto manejo y operación del esterilizador se procede a realizar los siguientes pasos: Ver Anexo V

- ❖ Se coloca en la cámara # 1 la cantidad de 15 L o 0.015m³ de agua.
- ❖ Se coloca el trípode

- ❖ Se ubica los sustratos a esterilizar de manera ordenada, uno encima de otro hasta completar la carga para la cual ha sido diseñada.
- ❖ Se tapa apretando las tuercas cilíndricas de seguridad completamente.
- ❖ Se enciende el selector de encendido
- ❖ Esperar un tiempo de 30 minutos para que alcance la temperatura de 121 °C o 394 °K y la presión de 1.7 bar o 170000 Pa.
- ❖ Desde ese momento transcurre el tiempo programado(30, 45, 60 minutos, manipulable)
- ❖ Todo el proceso de operación va de 60, 75, 90 minutos.
- ❖ Una vez terminado el proceso se observa el botón rojo encendido que indica que se debe apagar el selector.
- ❖ Esperar unos minutos hasta que se enfríe.
- ❖ Para acelerar el tiempo de enfriamiento se puede abrir la válvula de seguridad para un mayor escape de vapor.
- ❖ Abrir las tuercas cilíndricas de seguridad.
- ❖ Destapar cuidadosamente tomándola por la agarradera.

3.5. PRUEBAS DE VALIDACION.

3.5.1. PRUEBAS DE VALIDACION OPERACIONAL.

Esta se pudo comprobar en el taller donde fue construido, posteriormente en el lugar para el que fue diseñado.

El propósito de las pruebas operacionales fue chequear que el equipo este mecánicamente bien y que esté listo para la operación normal, lo cual lo pudimos comprobar correctamente

después de varios fallidos, ya que la primera vez que lo pusimos a prueba nos dimos cuenta que había escape de vapor lo cual no era conveniente, por lo que se cambió accesorios establecidos inicialmente como fueron mariposas de presión que sujetaban la tapa con el casco por tuercas cilíndricas de presión las cuales nos dieron buenos resultados, es decir se apreciaba una hermeticidad total sin escape de vapor.

En el Taller Mecánico: se lo comprobó mediante la Prueba Hidrostática que es la que se aplica a recipientes a presión; El equipo terminado se lo lleno con agua y se lo sometió a presión de prueba de una y media veces la presión máxima de trabajo permitida la cual se marcó en el manómetro (2.5 bar o 250000 Pa), lo que nos permitió comprobar la integridad estructural del recipiente y verificar que no existan fugas, además probamos la operabilidad del sistema de esterilización.

En el Laboratorio de Fitopatología: El equipo se instaló de forma adecuada para su funcionamiento, posterior a ello se lo puso el equipo en operación bajo condiciones a las que fue diseñado, durante un periodo de tiempo significativo, para revisar los dispositivos automáticos, controles, secuencias normales y para revisar posibles daños mecánicos o eléctricos (hermeticidad, vibración, sobrecalentamiento, sobrecarga etc.), los cuales pueden ocurrir durante el arranque. Si un ensayo operacional falla, se debe repetir el ensayo después que la falla ha sido corregida, en nuestro caso el proceso fue exitoso.

Además se verifico la correcta salida del aire, vapor, etc.

TABLA 3.5.1-1.
FUNCIONAMIENTO DE LA PARTE MECÁNICA DEL EQUIPO

FUNCIONAMIENTO	Prueba Hidrostática	Empaque de alta resistencia térmica	Tuercas cilíndricas a presión	Válvula de escape de aire y presión	Válvula de seguridad	Válvula de desagüe
UNIDADES	250000 Pa					
CORRECTO	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores – Taller Mecánico, Laboratorio Fitopatología FRN-ESPOCH

3.5.2. PRUEBA DE VALIDACIÓN FUNCIONAL.

Una vez el equipo instalado en el Laboratorio para el que fue construido se procedió a demostrar que el sistema realiza el proceso de esterilización semejante al simulador dentro de los márgenes establecidos como son: temperatura 121°C o 394°K y tiempo (programable) con el parámetro presión no se cumplió con lo establecido en el equipo simulador, ya que esta subió hasta 1.7 bar o 170000 Pa pero entendemos que dicha presión se encuentra dentro del rango de aceptación en tablas de vapor saturado a presión, posteriormente se tomaron varias muestras esterilizadas: tanto listas para ser inoculadas así como después de haber sido inoculadas según su grado de contaminación utilizando la técnica de la observación, estas fueron llevadas al microscopio para determinar exactamente el tipo de microorganismo que había crecido en dichas muestras, posteriormente se sometió a esterilización las muestras en tiempos determinados para después ponerlas a crecimiento en medio de cultivo (PDA) por 48 horas, obteniendo los resultados deseados en los varios tipos de sustratos (similar proceso al del simulador).

Procedimos a la realización de tres tipos de pruebas:

Esterilización ideal

Producto contaminado

Producto con alto índice de contaminación

3.5.2.1. ESTERILIZACIÓN IDEAL.

Demostramos que a lo largo del proceso de esterilización de una carga y de manera repetitiva los parámetros de presión, temperatura y tiempo alcanzados se encuentran dentro de los márgenes establecidos, ya que asumieron valores de 121°C o 394°K, 1.7 bar o 170000 Pa respectivamente y esta vez el tiempo fue de 30 minutos, una vez terminado el proceso de esterilización y a su vez enfriadas las muestras se procedió a tomar partes significativas y pusimos a crecer en cajas Petri en medio nutritivo PDA (potato dextrose agar) previamente preparadas por un tiempo de 48 horas, mediante la técnica de la observación utilizada en el desarrollo del proyecto pudimos verificar resultados positivos debido a que el medio de cultivo se encontró en las condiciones iniciales.

3.5.2.2. PRODUCTO CONTAMINADO.

Una vez las muestras identificadas el tipo de contaminante mediante observación en el microscopio se esterilizó la carga con el producto contaminado, la presión y la temperatura necesarias fueron las indicadas anteriormente, el único cambio que se produjo fue el incremento del tiempo, 15 minutos más al de la esterilización inicial, posteriormente tomamos partes significativas de las muestras, posteriormente se realizó el cultivo en cajas Petri en medio nutritivo PDA (potato dextrose agar) previamente preparadas por un tiempo

de 48 horas, después se observó tanto el medio como el sustrato en condiciones iniciales, obteniendo resultados positivos.

3.5.2.3. PRODUCTO CON ALTO GRADO DE CONTAMINACIÓN.

Una vez las muestras identificadas el tipo de contaminante mediante observación en el microscopio se esterilizó la carga con el producto contaminado. En este caso de igual manera existió una variación en el tiempo manteniendo las constantes de presión y temperatura, esta vez el tiempo se incrementó a 60 minutos, posteriormente tomamos partes significativas de las muestras y pusimos a crecer en cajas Petri en medio nutritivo PDA (potato dextrose agar) previamente preparadas por un tiempo de 48 horas, después se observó tanto el medio como el sustrato en condiciones iniciales, obteniendo resultados positivos.

En los tres tipos de muestras el proceso fue similar, la única variación fue que unas muestras estuvieron más contaminadas que otras.

**TABLA 3.5.2-1.
PARÁMETROS DE FUNCIONALIDAD**

PARAMETROS	TEMPERATURA °K	PRESION Pa	TIEMPO	MUESTRA DE SUSTRATOS
UNIDADES	394 °K	170000 Pa	Programable	
CORRECTO	✓	✓	✓	✓

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores – Laboratorio Fitopatología FRN-ESPOCH

3.5.3. PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS DE LA CALIDAD DEL NUTRIENTE

Las pruebas microbiológicas realizadas con los tres tipos de sustratos arrojaron resultados positivos, es decir que no hubo crecimiento de ningún tipo de microorganismos, únicamente cuando realizamos la simulación de datos una muestra fue contaminada con colonias de bacterias, pero por encontrarse con más muestras de similares características pudimos deducir que se contaminó al dispersar el medio en la caja Petri, con el equipo construido obtuvimos los resultados deseados. Lo que permitió determinar la validación correcta del equipo y por ende cumplir satisfactoriamente el proceso de esterilización, en las condiciones de temperatura y presión dadas y a un tiempo de variación de entre 30 – 60 minutos dependiendo las características de la muestra.

3.5.3.1. PROCESO UTILIZADO EN LA OBSERVACION DE MUESTRAS

ANTES DE LA ESTERILIZACION

Todas las muestras se observaron en el microscopio con objetivo 40X en la cámara de neubaver.

Se determinó el grado de humedad

La técnica de la observación (color, aspecto característico de crecimiento) nos permitió diferenciar los tipos de microorganismos, para tomar una muestra por cada tipo.

Los frascos que contenían las muestras fueron llevadas cerca al mechero de bunsen y con el aza flameada se tomó muestras de los diferentes tipos de microorganismos.

Se puso en la porta objetos sobre una gota de lugol previamente colocado en el centro una a una las muestras, evitando la formación de burbujas y tratando de no alterar las estructuras.

Se observó en el microscopio, se comparó en bibliografía y se determinó que tipo de microorganismo había crecido.

DESPUES DE LA ESTERILIZACION

Todas las muestras se pusieron a crecer en agar nutritivo (PDA) por 48 horas, durante ese tiempo se fue observando si había o no proliferación de colonias, pero los resultados fueron alentadores, tanto en el medio nutritivo así como en el sustrato no se observó alguna proliferación, demostrando así la seguridad al momento de esterilizar.

TABLA 3.5.3-1.
PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS DE LA CALIDAD DEL NUTRIENTE

GRADO DE CONTAMINACION	TIEMPO (min)	PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS DE CALIDAD DEL NUTRIENTE
Mezcla de sustratos (aparentemente bajo grado de contaminación)	30	La técnica que nosotros utilizamos para la validación de estas muestras fue la observación, las mismas que arrojaron resultados positivos, es decir no se observó crecimiento de ningún tipo de microorganismo, por lo tanto nos permitimos validar el equipo, resaltando satisfactoriamente el proceso de esterilización.
Producto contaminado	45	
Producto con alto grado de contaminación.	60	

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores – Laboratorio Fitopatología FRN-ESPOCH- SAQMIC

3.6. RESULTADOS

Los datos de validación del diseño de ingeniería, son los datos tomados en el equipo construido.

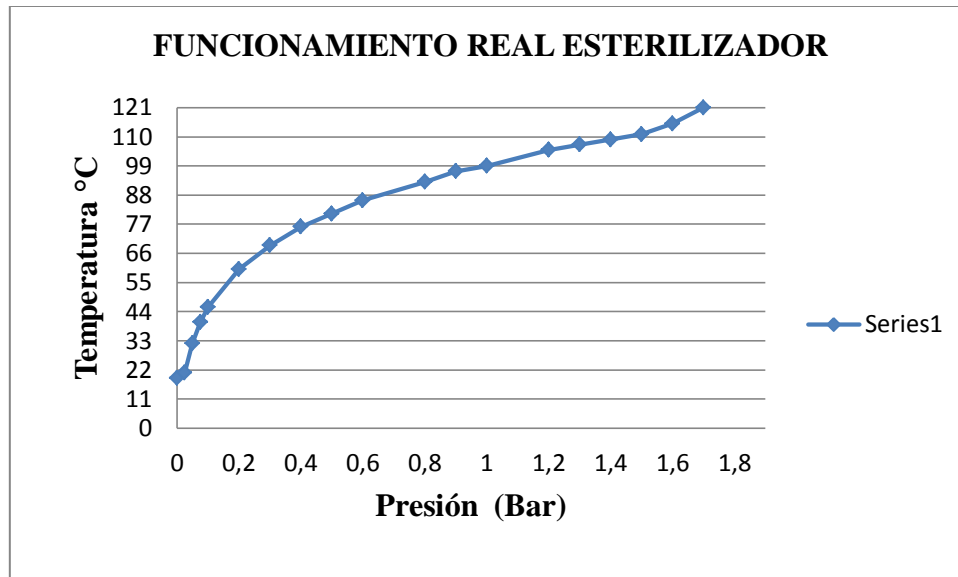
3.6.1. RESULTADOS TOMADOS EN LA VALIDACION DEL EQUIPO

TABLA 3.6.1-1
RESULTADOS EN LA VALIDACION DEL EQUIPO

Temperatura (°C)	Presión (bar)
19	0
21	0,025
32	0,05
40	0,75
45.8	0,1
60	0,2
69	0,3
76	0,4
81	0,5
86	0,6
93	0,8
97	0,9
99	1,0
105	1,2
107	1,3
109	1,4
111	1,5
115	1,6
121	1,7

Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores

3.6.1-1. HISTOGRAMA DE LA VALIDACION DEL EQUIPO



Fuente: María E. Ronquillo María A. Flores

3.6.2. RESULTADOS DE LA ESTERILIZACION SEGÚN EL GRADO DE CONTAMINACION.

TABLA 3.6.2-1
RESULTADOS DE LA ESTERILIZACION SEGÚN EL GRADO DE CONTAMINACION

CONDICIÓN	T (°C)	P(atm)	t(min)
1	121	1,7	30
2	121	1,7	45
3	121	1,7	60

Fuente: María A. Flores María E. Ronquillo

3.6.3. RESULTADOS DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS.

TABLA 3.6.3-1
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUSTRATOS DESPUÉS DE LA
ESTERILIZACIÓN (sistema diseñado y construido).

DIA	# TOMAS	TECNICA	RESULTADOS
14/03/2012	1	Las muestras fueron la mezcla de sustratos (arrocillo, cascara de arroz, melaza), después de haber salido de la esterilización, la cual fue puesta en el medio de cultivo PDA por el lapso de 2 días. La técnica usada fue: vertido en placa	En ninguna de las muestras se observó proliferación de colonias por lo que el medio de cultivo así como el sustrato se encontró en las condiciones iniciales.

Fuente: Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos SAQMIC – Dra. Gina Álvarez

TABLA 3.6.3 -2**ANALISIS MICROBIOLOGICO DE SUSTRATOS CONTAMINADOS DESPUES
DE LA ESTERILIZACION (sistema diseñado y construido)**

DIA	# TO MA S	OBSERVACIONES ANTES DE ESTERILIZAR	TECNICA	OBSERVACIONES DESPUES DE ESTERILIZAR
15/03/2012	1	Alto crecimiento de <i>Aspergillus Níger</i> y crecimiento aislado de <i>trichoderma</i>	Las muestras tomadas fueron sustratos contaminados después de haber sido inoculados con <i>trichoderma sp</i> , las mismas que fueron esterilizadas, después se dispersó en medio de cultivo PDA por el lapso de dos días. La técnica usada fue: vertido en placa	No se observó el crecimiento de ningún tipo de hongos con los que había estado contaminada ni presencia de otros. El grado de humedad fue de 26,86%

Fuente: Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos SAQMIC – Dra. Gina Álvarez

TABLA 3.6.3-3
ANALISIS MICROBIOLOGICO DE SUSTRATOS CON ALTA
CONTAMINACION DESPUES DE LA ESTERILIZACION
(Sistema diseñado y construido)

DIA	# TO MA S	OBSERVACIONES ANTES DE ESTERILIZAR	TECNICA	OBSERVACIONES DESPUES DE ESTERILIZAR
16/03/2012	3	Alto crecimiento de <i>Aspergillus Níger</i> y crecimiento abundante de <i>trichoderma</i>	Las muestras tomadas fueron sustratos contaminados después de haber sido inoculados con <i>trichoderma sp</i> , las mismas que fueron esterilizadas, después se dispersó en medio de cultivo PDA por el lapso de dos días.	No se observó el crecimiento de ningún tipo de hongos con los que había estado contaminado antes de someterlo a esterilización ni presencia de otros microorganismos El grado de humedad fue de 46.12%

Fuente: Servicios Analíticos Químicos y Microbiológicos SAQMIC – Dra. Gina Álvarez

CAPITULO IV

ANALISIS DE

RESULTADOS

4. ANALISIS DE RESULTADOS

Para verificar el correcto funcionamiento y desempeño del equipo fue necesario realizar un plan de trabajo, el mismo que empezó luego de terminado la construcción del equipo para esto se realizaron pruebas de validación operacional incluyendo la prueba hidrostática, en el mismo sitio donde se construyó. Una vez el equipo en el Laboratorio de Fitopatología de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, nosotras realizamos pruebas de validación funcional y las pruebas de validación operacional, las cuales arrojaron resultados satisfactorios.

Según la tabla 2.4.5 se pudo comprobar parámetros que utilizamos en el diseño como son el volumen del equipo, cantidad de masa inmersa en la esterilización, el volumen de agua entre otros parámetros importante.

Según la tabla 3.6.1-1 se estableció las condiciones con las que operaba el equipo como son presión 1.7 Pa, temperatura 121°C y tiempo de acuerdo al grado de contaminación.

En el análisis microbiológico se obtuvo los resultados esperados ya que el proceso de esterilización se realizó a cabalidad con las condiciones propuestas y de acuerdo a su nivel de contaminación.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

Y

RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

1. El diseño y construcción del sistema de esterilización húmeda se realizó de acuerdo a las características propuestas, en donde sobresale su doble funcionamiento tanto eléctrico como a gas, características que lo hacen un equipo poco común en el mercado.
2. El diseño de ingeniería del sistema de esterilización húmeda para sustratos sólidos, fue elaborado mediante la identificación específica de las variables de proceso que caracterizan a dicho sistema, estableciendo el grado de complejidad y la viabilidad en su construcción.
3. Los parámetros de presión y temperatura fueron tomados inicialmente en el sistema simulador, los cuales fueron: temperatura de 394 °K, presión de 100000 Pa y variabilidad del tiempo de acuerdo al agente contaminante, los mismos que se los tomo como referencia en el diseño del equipo a construir así como el tipo de material y demás accesorios a emplearse.
4. Una vez conocidos las características de diseño como: Volumen 0.0135 m^3 , Presión de operación 101352.96 Pa, Presión de diseño 308195.73 Pa, Presión de trabajo máxima permitida 1043647.46 Pa, Temperatura de operación y diseño 394°K, se realizaron cálculos ingenieriles que permitieron determinar característica mecánicas como:

Longitud 0.57 m, Diámetro 0.55m, Espesor del material en acero inoxidable 0.03m con un margen de corrosión de 0.0015875m/12 años.

5. El balance de masa con el que se logró determinar la cantidad de agua necesaria que utilizará el equipo $V_{H_2O} 0.015m^3$, y la masa del gas 0.98.Kg por cada lote de producción que logrará transformar el agua en vapor saturado y cumplir con el proceso de esterilización
6. El balance de energía con el que se determinó la cantidad de calor requerido por el sistema 4757251.1 J necesarias para subir los $0.015 m^3$ de agua a $394^{\circ}K$.
7. El equipo diseñado y construido funcionará bajo parámetros como son: Temperatura ($394^{\circ}K$), Presión (170000 Pa), en lo que respecta al tiempo es variable de acuerdo al agente contaminante, cabe señalar que el sistema es digital por lo que es programable de acuerdo a la necesidad.
8. Las pruebas operacionales como funcionales a las que fue sometido el recipiente nos dieron resultados positivos, únicamente hubo una ligera variación en lo que respecta a la presión de 100000 a 170000 Pa, esta variación es válida ya que está dentro de lo aceptable en tablas de vapor saturado a presión.
9. En las pruebas microbiológicas realizadas a los tipos de muestras antes de someterlas a esterilización : inicialmente, en las primeras no se pudo visualizar a simple vista presencia de contaminación, a diferencia de las segundas y terceras muestras en las que se observaron alto grado de contaminación, a las mismas que se les aplicó la técnica de la observación para identificar mediante el microscopio el tipo de contaminante, en algunas de estas siendo el mayor contaminante el hongo trichoderma sp posiblemente contaminadas con muestras inoculadas con este microorganismo,

posteriormente se esterilizó, se incubo por un período de 48horas y se observó que no hubo ningún tipo de crecimiento, con lo que se pudo comprobar la efectividad del sistema de esterilización.

5.2. RECOMENDACIONES

1. Utilizar la autoclave cumpliendo correctamente la guía de manejo y operación.
2. Para determinar el diseño más conveniente en la construcción de un recipiente a presión, se debe consultar los manuales del Código ASME.
3. El tiempo de esterilización se debe comenzar a contar una vez que se ha alcanzado los 394 °K en la cámara interna de la autoclave.
4. En caso de no presentarse escape de vapor durante el proceso de esterilización, abrir la válvula de seguridad y después revisar posibles taponamientos.
5. El equipo debe ser inspeccionado continuamente para evitar posibles fallas de accesorios que puedan causar algún tipo de accidente.
6. Antes de comenzar el proceso de esterilización es necesario remover todo el aire de la cámara de la autoclave, porque de lo contrario no se podrán alcanzar las condiciones de esterilización requeridas debido a que la cámara interna del equipo no podrá ser saturada por el vapor de agua.
7. En caso de observar algún desgaste del empaque de alta resistencia térmica con el pasar del tiempo se sugiere utilizar sello rojo, previo a ello pasar una lija en el contorno del empaque.

BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFÍA

- 1. ASME.,** Boiler and Pressure Vessel Code VIII, Division I,II, 1998.,Pp. 65-87-91.
- 2. CIANCIO., P.,** Recipientes a Presión., 2^{da} edición., Buenos Aires., Argentina., 2004., Pp. 18-25-275-305.
- 3. LEON., J.,** Diseño y Calculo de Recipientes a Presión, 2^{da} edición., Mexico D. F ., 2001., Pp.32-45-54-63.
- 4.**
- 5. MEGYESY., E.,** Manual de Recipientes a Presión., 3^{ra} edición., México., D.F. Limusa., Noriega.,2007.,Pp.174-175-187-195.
- 6. PEMEX., T.,** Diseño y Construcción de Recipientes a Presión, 2da edición., México., D.F. México ., 2009., Pp. 254-256-287-289-294.

6.1. BIBLIOGRAFIA DE INTERNET

1. AUTOCLAVE – FUNCIONAMIENTO

es.wikipedia.org/wiki/Autoclave

(22/05/2011)

2. AIRE EN AUTOCLAVE

[es.wikipedia.org/wiki/Aire en Autoclave](http://es.wikipedia.org/wiki/Aire_en_Autoclave)

(25/05/2011)

3. AUTOCLAVES DE VAPOR

[html.rincondelvago.com/autoclave de vapor.html](http://html.rincondelvago.com/autoclave_de_vapor.html)

(02/07/2011)

4. CODIGO ASME

www.asme.org/.../asme-viii-div-1--diseno--construcción-e-inspección

(08/12/2011)

5. DISEÑO Y CONSTRUCCION DE RECIPIENTES A PRESIÓN

www.inglesa.com.mx/books/DYCTA.pdf

(/12/2011)

6. ESTERILIZACION

es.wikipedia.org/wiki/Esterilización

(18/05/2011)

7. FACTORES EN LA ESTERILIZACION POR VAPOR HUMEDO

bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1694/1/CD-2312.pdf

(22/05/2011)

8. SUSTRATO

www.wordreference.com/definicion/sustrato

(18/05/2011)

9. TIPOS DE SUSTRATOS

www.infoagro.com/industria_auxiliar/tipo_sustratos2.htm

(18/05/2011)

10. TIPOS DE ESTERILIZACION

[html.rincondelvago.com/tipos de esterilizacion-y-desinfeccion.html](http://html.rincondelvago.com/tipos_de_esterilizacion-y-desinfeccion.html)

(22/05/2011)

11. TIPOS DE RECIPIENTES A PRESION

[www.4shared.com/office/.../Diseo_Y_Calculo_De **Recipientes** .html](http://www.4shared.com/office/.../Diseo_Y_Calculo_De_Recipientes_.html)

(25/09/2011)

ANEXOS

ANEXO II GUIA OPERACIONAL DE LA AUTOCLAVE

Una buena esterilización por autoclave depende de la eliminación de todo el aire de la cámara y la carga.

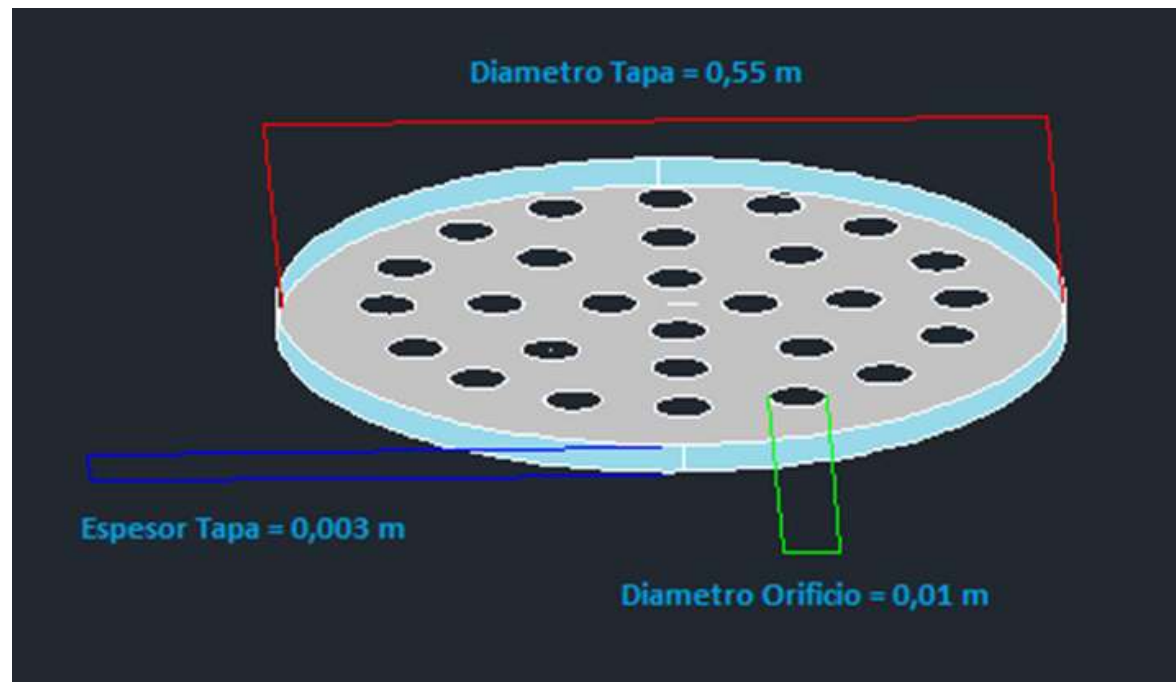
Debe haber agua suficiente dentro de la cámara, procurando que su nivel no sobrepase la rejilla metálica que separa la una cámara de la otra.

Se carga el autoclave con los objetos o materiales que se disponen esterilizarse, los mismos que deben colocarse sin apretarse, los artículos limpios pueden ponerse en cestillos de alambre, pero el material contaminado debe estar en un recipiente de fondo sólido en una altura no mayor a 8 cm. Deben dejarse grandes espacios de aire alrededor de cada recipiente y ninguno debe estar totalmente hermético porque impedirá el ingreso del vapor.

Se aprieta la tapa manteniendo la espita de descarga abierta hasta que todo el aire se desaloje y comience la salida de vapor en forma de chorro continuo y abundante. Se ajusta seguidamente la válvula de seguridad a la temperatura requerida, se programa el tiempo necesario y se conecta a la fuente de calor. Cuando el agua hierva, fluirá el vapor por la espita de descarga, arrastrando con él, el aire caliente existente en la cámara. Se deja que salgan libremente el aire y el vapor hasta que se haya eliminado todo el aire. Cuando se haya alcanzado esta fase, se cierra la espita de descarga aire-vapor. La presión del vapor se eleva en la cámara hasta que alcance 1 atmosfera. Cuando la carga ha alcanzado la temperatura requerida de 121°C se mantiene la presión el tiempo que se ha programado en minutos dependiendo del tipo de contaminación. Al término del periodo de esterilización, se apaga el calentador y se deja que la autoclave se enfríe. Se abre la espita de descarga muy lentamente una vez que el indicador ha llegado a cero, se deja que el material se enfríe hasta que tenga una temperatura a la cual pueda cogerse con las manos

ANEXO III

DISEÑO DEL TRÍPODE



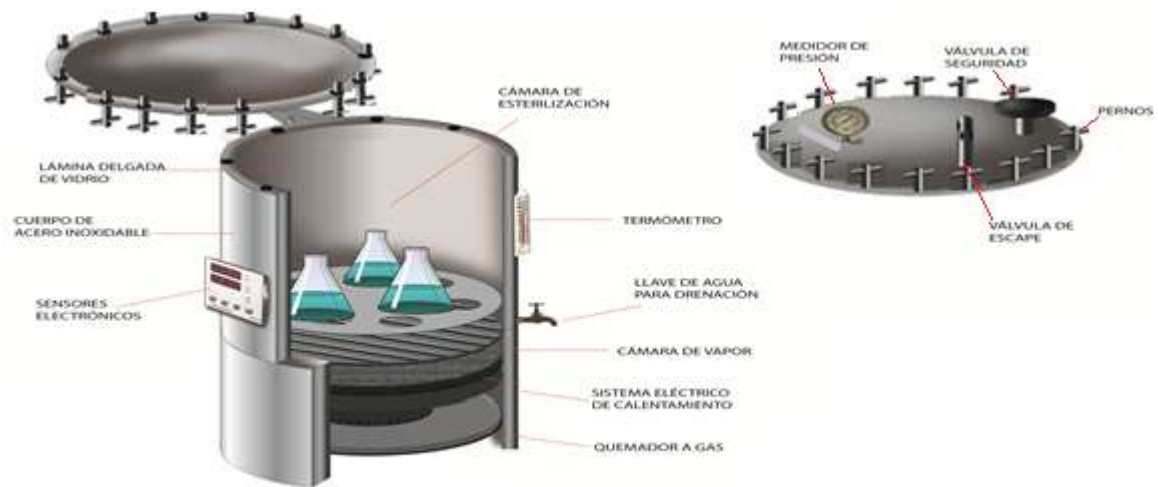
ANEXO IV

PARTES DEL SISTEMA DE ESTERILIZACION



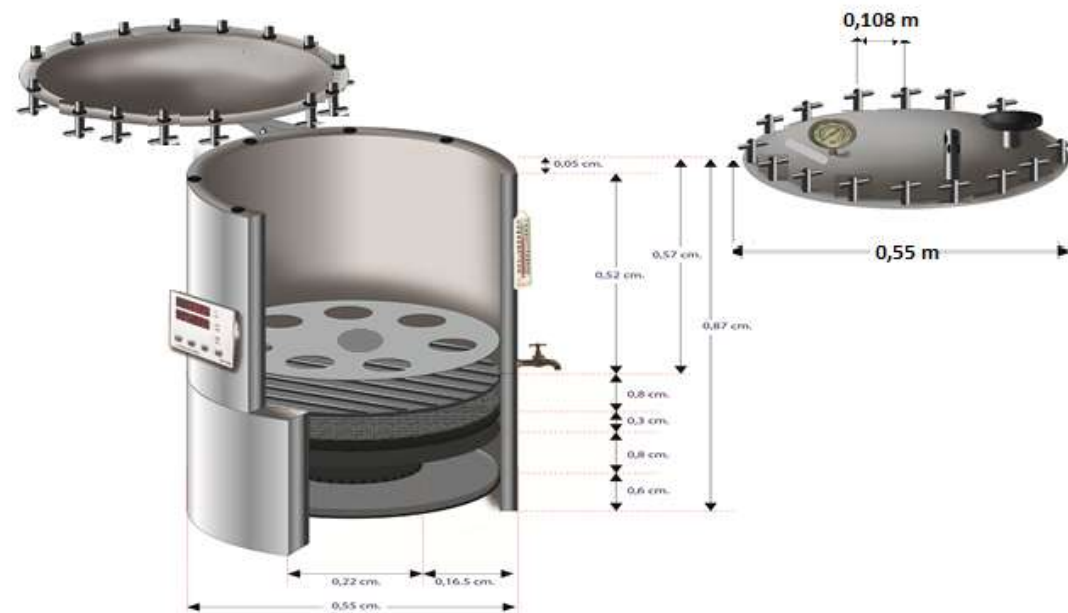
ANEXO V

PARTES DEL SISTEMA DE ESTERILIZACION



ANEXO VI

DIMENSIONES DEL SISTEMA DE ESTERILIZACION



ANEXO VII

TABLA DE CONVERSION DE DECIMALES DE PULGADA CON EQUIVALENTES EN MILIMETROS

DECIMALES DE PULGADA CON EQUIVALENTES EN MILIMETROS											
	Decimal	Mili- metros		Decimal	Mili- metros		Decimal	Mili- metros		Decimal	Mili- metros
$\frac{1}{32}$.03125	.794	$\frac{9}{32}$.28125	7.144	$\frac{17}{32}$.53125	13.494	$\frac{25}{32}$.78125	19.844
$\frac{1}{16}$.0625	1.587	$\frac{5}{16}$.3125	7.937	$\frac{9}{16}$.5625	14.287	$\frac{13}{16}$.8125	20.637
$\frac{3}{32}$.09375	2.381	$\frac{11}{32}$.34375	8.731	$\frac{19}{32}$.59375	15.081	$\frac{27}{32}$.84375	21.431
<u>$\frac{1}{8}$</u>	<u>.125</u>	<u>3.175</u>	$\frac{3}{8}$.375	9.525	$\frac{5}{8}$.625	15.875	$\frac{7}{8}$.875	22.225
$\frac{5}{32}$.15625	3.969	$\frac{13}{32}$.40625	10.319	$\frac{21}{32}$.65625	16.669	$\frac{29}{32}$.90625	23.019
$\frac{3}{16}$.1875	4.762	$\frac{7}{16}$.4375	11.113	$\frac{11}{16}$.6875	17.462	$\frac{15}{16}$.9375	23.812
$\frac{7}{32}$.21875	5.556	$\frac{15}{32}$.46875	11.906	$\frac{23}{32}$.71875	18.256	$\frac{31}{32}$.96875	24.606
$\frac{1}{4}$.25	6.350	$\frac{1}{2}$.5	12.700	$\frac{3}{4}$.75	19.050	1	1.	25.400

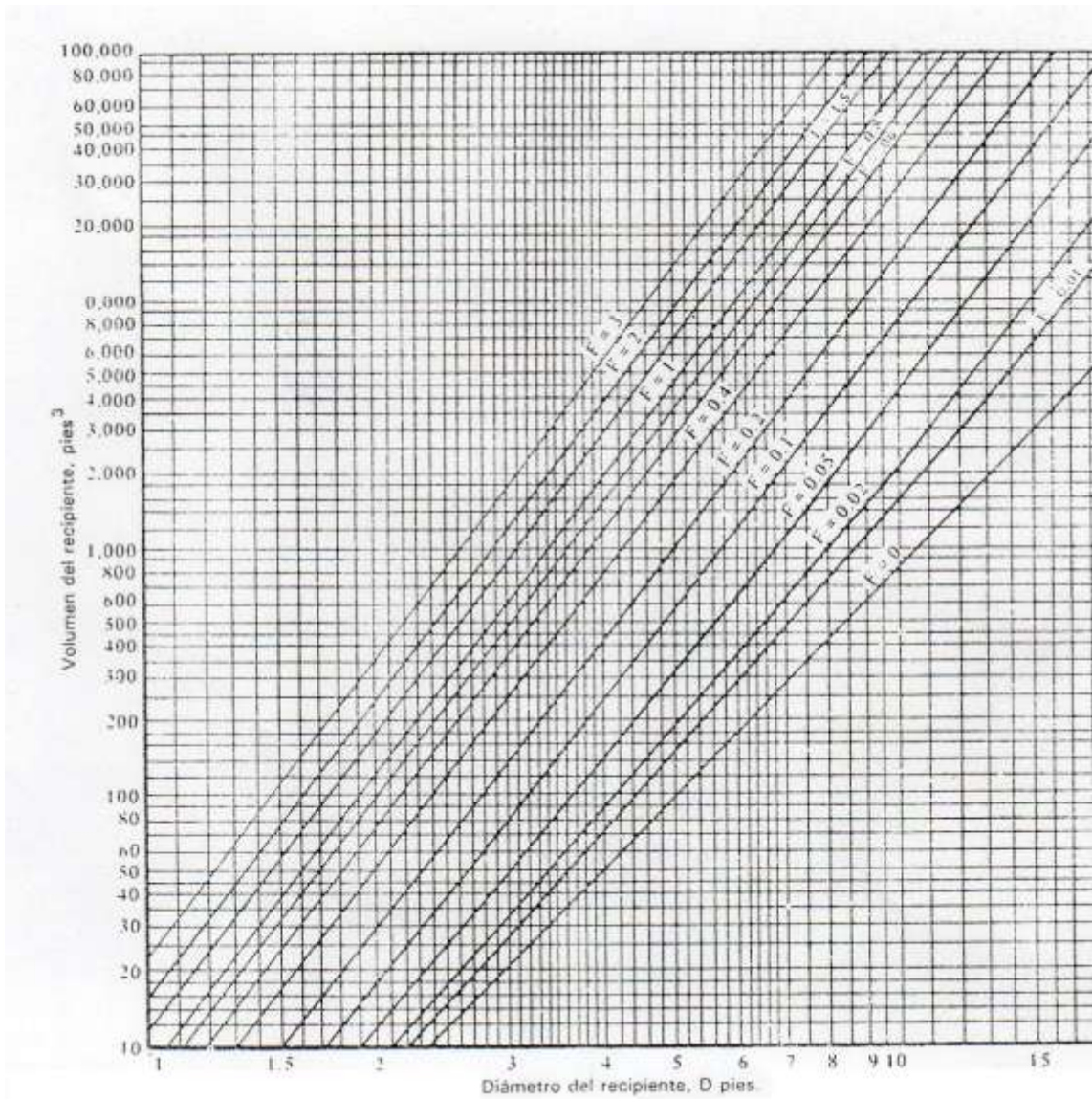
ANEXO VIII

SISTEMA METRICO

SISTEMA METRICO								
	DERIVACION DE UNIDADES	SUBDIV. DE LA UNIDAD			UNIDAD	MULTIPLoS DE LA UNIDAD		
		0.001	0.01	0.1		100	1.000	10.000
LONGITUD	1 METRO = 1/40 000 000 DEL MERIDIANO (CON LIGERA DESVIACION) LONGITUD DEL METRO PROTOTIPO (39.37 pulgadas)	MILI-METRO mm	CENTI-METRO cm	DECI-METRO dm	METRO m	—	KILO-METRO	
VOLUMEN	1 LITRO = 1 DECIMETRO CUBICO = 0.001 METRO CUBICO	MILI-LITRO ml	CENTI-LITRO cl	DECI-LITRO dl	LITRO l	HECTO-LITRO hl	METRO CUBICO m ³	
PESO	1 KILOGRAMO = PESO DE UN LITRO DE AGUA A LA TEMPERATURA DE 4°C	GRAMO g	DECA-GRAMO dg	—	KILO-GRAMO kg	QUINTAL q	TON t	
TEMPERATURA	PUNTO DE CONGELACION 0° PUNTO DE EBULLICION 100° ESTE INTERVALO DIVIDIDO ENTRE 100 GRADOS (SIMBOLO °C)							

ANEXO IX

FACTOR F



ANEXO XI

PROPIEDADES DEL AGUA SATURADA (LIQUIDO – VAPOR)

Tabla de Presiones

Presión bar	Temp. °C	Volumen específico m ³ / kg		Energía interna kJ / kg		Entalpia kJ / kg			Entropia kJ / kg , K	
		Líquido	Vapor	Líquido	Vapor	Líquido	Vapor	Vapor	Líquido	Vapor
		sat, v _f x 10 ³	sat, v _g	sat, u _f	sat, u _g	sat, h _f	vaporiz, h _{fg}	sat, h _g	sat, s _f	sat, s _g
0,04	28,96	1,0040	34,800	121,45	2415,2	121,46	2432,9	2554,4	0,4226	8,4746
0,06	36,16	1,0064	23,739	151,53	2425,0	151,53	2415,9	2567,4	0,5210	8,3304
0,08	41,51	1,0084	18,103	173,87	2432,2	173,88	2403,1	2577,0	0,5926	8,2287
0,10	45,81	1,0102	14,674	191,82	2437,9	191,83	2392,8	2584,7	0,6493	8,1502
0,20	60,06	1,0172	7,649	251,38	2456,7	251,40	2358,3	2609,7	0,8320	7,9085
0,30	69,10	1,0223	5,229	288,20	2468,4	289,23	2336,1	2625,3	0,9439	7,7686
0,40	75,87	1,0265	3,993	317,53	2477,0	317,58	2319,2	2635,8	1,0259	7,6700
0,50	81,33	1,0300	3,240	340,44	2483,9	340,49	2305,4	2645,9	1,0910	7,5939
0,60	85,94	1,0331	2,732	359,79	2489,8	359,86	2293,6	2653,5	1,1453	7,5320
0,70	89,95	1,0360	2,385	376,63	2494,5	376,70	2283,3	2660,0	1,1919	7,4797
0,80	93,50	1,0380	2,087	391,58	2498,8	391,66	2274,1	2665,8	1,2329	7,4346
0,90	96,71	1,0410	1,869	405,06	2502,6	405,15	2265,7	2670,9	1,2695	7,3949
1,00	99,63	1,0432	1,694	417,98	2506,1	417,46	2258,0	2675,5	1,3026	7,3594
1,50	111,4	1,0528	1,159	466,94	2519,7	467,11	2226,5	2693,6	1,4336	7,2233
2,00	120,2	1,0605	0,8857	504,49	2529,5	504,70	2201,9	2705,7	1,5301	7,1271
2,50	127,4	1,0672	0,7187	535,10	2537,2	535,37	2181,5	2715,9	1,6072	7,0527
3,00	133,6	1,0732	0,6058	561,15	2543,6	561,47	2163,8	2725,3	1,6718	6,9919
3,50	138,9	1,0786	0,5243	583,95	2546,9	584,33	2148,1	2732,4	1,7275	6,9405
4,00	143,6	1,0836	0,4625	604,31	2553,6	604,74	2133,8	2739,6	1,7766	6,8959
4,50	147,9	1,0882	0,4140	622,25	2557,6	623,25	2120,7	2743,9	1,8207	6,8565
5,00	151,9	1,0926	0,3749	638,68	2561,2	640,23	2108,5	2743,7	1,8607	6,8212
6,00	158,9	1,1006	0,3157	666,90	2567,4	670,56	2086,3	2755,8	1,9312	6,7600
7,00	165,0	1,1080	0,2729	686,44	2572,5	697,22	2066,3	2763,5	1,9822	6,7080
8,00	170,4	1,1148	0,2404	720,22	2576,8	721,11	2048,0	2769,1	2,0462	6,6628
9,00	175,4	1,1212	0,2150	741,83	2580,5	742,83	2031,1	2773,9	2,0946	6,6226
10,0	179,9	1,1273	0,1944	761,68	2583,8	762,81	2015,3	2778,1	2,1387	6,5863
15,0	198,9	1,1539	0,1318	845,16	2594,5	844,84	1947,3	2792,2	2,3150	6,4448
20,0	212,4	1,1767	0,09963	906,44	2600,3	908,79	1890,7	2799,5	2,4474	6,3409
25,0	224,0	1,1973	0,07998	959,11	2603,1	962,11	1841,0	2803,1	2,5547	6,2575
30,0	233,9	1,2165	0,06668	1004,8	2604,1	1008,4	1795,7	2804,2	2,6457	6,1869
35,0	242,6	1,2347	0,05707	1045,4	2603,7	1049,8	1753,7	2803,4	2,7253	6,1253
40,0	250,4	1,2522	0,04978	1082,3	2602,3	1087,3	1714,1	2801,4	2,7964	6,0701
45,0	257,5	1,2692	0,04406	1116,2	2600,1	1121,9	1676,4	2798,3	2,8610	6,0199
50,0	264,0	1,2859	0,03944	1147,8	2597,1	1154,2	1640,1	2794,3	2,9202	5,9734
60,0	275,6	1,3187	0,03244	1205,4	2589,7	1213,4	1571,0	2784,3	3,0267	5,8892
70,0	285,9	1,3513	0,02737	1257,6	2580,5	1267,0	1505,1	2772,1	3,1211	5,8133
80,0	295,1	1,3842	0,02352	1305,6	2569,8	1316,6	1441,3	2759,0	3,2068	5,7432
90,0	303,4	1,4178	0,02048	1350,5	2557,8	1363,3	1378,9	2742,1	3,2858	5,6772
100	311,1	1,4524	0,01803	1393,0	2544,4	1407,6	1317,1	2724,7	3,3596	5,6141
110	318,2	1,4886	0,01599	1433,7	2529,8	1450,1	1255,5	2705,6	3,4295	5,5527
120	324,8	1,5267	0,01426	1473,0	2513,7	1491,3	1193,6	2684,9	3,4962	5,4924
130	330,9	1,5671	0,01278	1511,1	2496,1	1531,5	1130,7	2662,2	3,5606	5,4323

ANEXO XII

FOTOGRAFIAS DE ANALISIS MICROBIOLÓGICOS



ANEXO XIII

FOTOGRAFIAS DEL EQUIPO SIMULADOR



ANEXO XIV

RESULTADOS DE LAS MUESTRAS ESTERILIZADAS



ANEXO XV
EQUIPO DISEÑADO Y CONSTRUIDO

